BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL

COORDENADORES:

WALTER BORZANI WILLIBALDO SCHMIDELL URGEL DE ALMEIDA LIMA EUGÊNIO AQUARONE VOLUMET

FUNDAMENTOS





Coordenadores:

WALTER BORZANI
WILLIBALDO SCHMIDELL
URGEL DE ALMEIDA LIMA
EUGÉNIO AQUARONE

BIOTECNOLOGIA

VOLUME I FUNDAMENTOS



O 2001 Walter Borzani
Wilibaldo Schmidell
Urgel de Almeida Lima
Eugénio Aquarone

2º reimpressão - 2008

É proibida o reprodução total ou parcial por qualsquer meios sem amorização escrita da cilitora

EDITORA BLUCHER
Rua Pedroso Alvarenga, 1245 – 4° andar
04531-012 – Sto Paulo, SP – Brasil
Fax: (11) 3079-2707
Tel: (11) 3078-5366
0-mail: odiora@bluckon.com.br

ISDN 978-65-212-0278-3

40 04 10 10 10 10

FICHA CATALOGRÁFICA

Borzagi, Walter

Biotecnologia ardustrial / Walter Berzani - outros coordenadores: Willibaklo Schmidell, Urgel de Almeida Lima, Eugénio Aquarone -- São Paulo: Blecher, 2001.

Bibliografia. ISBN 978-85-212-0278-3.

I. Biotecnologia 2. Biotecnologia industrial 3. Microbiologia industrial 4. Microorganismos biotecnologicos I. Borzani, Walter II. Schmidell, Willibaldo III. Lima, Urgel de Almeida IV. Aquacore, Engéxio

05-0906

CDD-606.6

Índices para catálogo sistemático:

1. Biotecnologia Industrial: Engenharia química 606.6



APRESENTAÇÃO

Este conjunto de quatro volumes, reunidos sob o título amplo de BIOTEC-NOLOGIA INDUSTRIAL, é o resultado do trabalho de um grupo de profissionais com vistas à atualização da coleção BIOTECNOLOGIA, cuja publicação foi iniciada em 1975 e terminado em 1983.

A experiência acumulada e as muitas mudanças ocorridas nestes últimos vinte anos, ao lado da indiscutível e crescente importancia das aplicações da BIOTEC-NOLOGIA em diversos setores de produção de bens e serviços, justificam plenamente — assim pensam os Coordenadores e o Editor desta nova Coleção — esta primeira atualização, principalmente pelo fato de se destinar ao ensino em cursos de graduação.

Nosso primeiro objetivo, nesta Apresentação, é tomar conhecimento do que, hoje, se entende por BIOTECNOLOGIA, e do que vem a ser BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL.

A demarcação nitida do campo de atuação de qualquer ramo do conhecimento é sempre tarefa muito difícil, para não dizer impossível.

Tanto isto e verdade que, com certa freqüência, tratados relativos a um dado setor do conhecimento atacam diretamente o exame de uma série de temas sem tentar esboçar, preliminarmente, um quadro que, em largos traços, indíque os objetivos e as aplicações do que vai ser estudado.

Tal maneira de agir, principalmente em cursos de graduação, não nos parece aconselhavel. Julgamos importante, no início dos estudos, a apresentação de um panorama que dê, aos alunos, uma idéia, ainda que não bem definida, daqueles objetivos e aplicações.

Não nos parece que seja imprescindível transcrever, aqui, todas as propostas de "definição" do que se deva entender por Biotecnologia. Algumas delas serão suficientes para que seja possível alcançar nosso objetivo.

Iniciaremos com a proposta que o Prof. Antonio Paes de Carvalho, em seu trabalho intitulado "Patentes para a Biotecnologia", apresentou, em dezembro de 1993, em reunião realizada na Academia Brasileira de Ciências:

"Entende-se por Biotecnologia o conjunto de conhecimentos, técnicas e métodos, de base científica ou prática, que permite a utilização de seres vivos como parte integrante e ativa do processo de produção industrial de vens e serviços".

O Office of Technology Assessment, por sua vez, "definiu" Biotecnologia como sendo:

"O conjunto de processos industriais que englobam processos biológicos".

Por outro lado, a Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée, conceituou Biolecnologia como:

"Aplicação da Bioquimica, da Biologia, da Microbiologia e da Engantaria Química aos processos e produtos industriais (incluindo os produtos relativos à saúde, energia e agricultura) e ao aicio ambiente".

Finalmente, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), em seu Programa Nacional de Biotecnología, "definiu" Biotecnología nos seguintes termos:

"Autilização de sistemas celulares para obsenção de produtos ou desenvolvamento de processos industriais".

As poucas tentativas de definição aqui transcritas mostram, nitidamente, que a Biotecnologia tem por base vários ramos do conhecimento que poderiam ser classificados de FUNDAMENTAIS (como, por exemplo, Bioquímica, Fisiologia, Genética, Microbiologia, Virologia, Botânica, Zcologia, Ecologia) ao lado de outros que poderiam ser agrupados sob a denominação genérica de ENGENHARIAS (principalmente a Engenharia Química).

Trata-se, portanto, de um campo de trabalho tipicamente multidisciplinar, o que torna absolutamente imprescindível a efetiva colaboração de profissionais abuntes em diferentes setores do conhecimento.

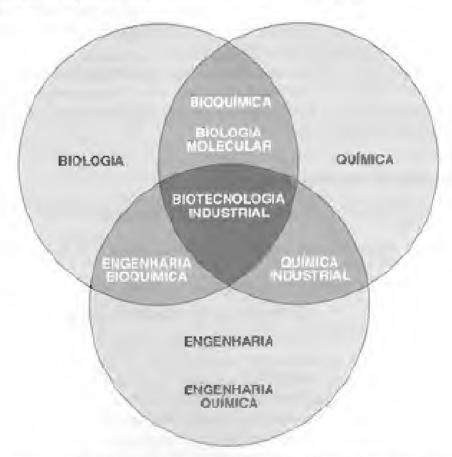
Destaque-se, porém, que essa atividade multidisciplinar não deve ser entendida como resultante de uma simples justaposição de profissionais, cada um deles com sua formoção especializada e preocupado apenas com sua área específica, Importa que soja, de fato, um trabalho de vários profissionais efetivamente integrados, de modo que cada um deles tenha conhecimento, obviamente não aprofundado, dos princípios e das técnicas dos campos de atuação dos demais. Assim, apenas para citar um exemplo, caso um microbiologista participe de um grupo que estuda a otimização de um dado processo, é desejável que tenha alguns conhecimentos, mesmo que superficiais, a respeito das estratégias empregadas para a modelagem matemática. Vice-versa, o especialista em modelagem deve efetuar um estorço adicional para compreender as características do sistema microbiano em estudo, a fim de incorporá-las ao modelo. Somente desta forma a atividade multidisciplinar eletivamente existirá e poderá ser mais eficiente.

Se é verdade, por un lado, que a Biotecnologia só passou a ser considerada altamente prioritária há relativamente pouco tempo, também é verdade, por outro, que processos biotecnologicos vem sendo utilizados na produção de vários bens, principalmente alimentos, desde a mais remota antigüidade. Basta, noste particular, fozer referência ao preparo de bebidas fermentadas a partir de cereais na Babilônia e no Egito (8.000 a 6.000 anos a.C.), à produção de pão, utilizando fermentos, no Egito (4.000 anos a.C.) e à produção de vinhos na Grécia (2.000 a.C.).

A Biotecnologia encontra muitas aplicações importantes nas seguintes áreas de atividade:

- Agricultura
- Pecuária
- Saúde
- Preservação do meio ambiente.
- Indústria

Suas aplicações na indústria constitutem e objetivo primordial da Biotecnologia Industrial. A Fig. 1, adaptada de um artigo publicado pelo Prof. Rainer Jonas, é uma boa representação gráfica da "localização" da Biotecnologia Industrial e de sua interação com outros ramos do conhecimento.



Pigura I — Representação esquemetos da manação de Biotechologa Industrial com outros ramos do conhe oriento.

Convém, finalmente, ressaltar que, como ocorre em outros campos de trabalho, as áreas de aplicação da Biotecnologia, anteriormente apontadas, não são "gavetas" estanques. Há entre elas, frequentemente, fortes interações. Apenas para citar um exemplo, considere-se o caso de uma dada vacina, desenvolvida na área da Saúde. Na etapa final de produção dessa vacina em larga escala surgirão, muito provavelmente, problemas de cunho tecnológico e de engenharia que poderão tomar imprescindível a efetiva participação da Biotecnologia Industrial na busca das soluções mais adequadas.

A presente Coleção consta de quatro volumes. No primeiro — FUNDAMENTOS — reunem-se, como o proprio nome claramente indica, temas fundamentais indispensáveis ao estudo de processos biotecnológicos. O segundo — ENGENHA-RIA BIOQUÍMICA — focaliza os principais problemas de engenharia envolvidos naqueles processos, ao lado de assuntes correlatos de âmbito mais geral, mas importantes na produção em larga escala. Os dois últimos volumes — PROCESSOS FERMENTATIVOS E ENZIMÁTICOS e BIOTECNOLOGIA NA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS — foram dedicados à descrição e discussão de processos biotecno-lógicos de importância industrial.

Todos os temas foram tratados partindo-se do pressuposto de que a obra se destina, primordialmente, a cursos de graduação. A bibliografia indicada no final de cada capítulo poderá servir como ponto de partida para os que pretenderem um exame mais aprofundado de um ou outro tópico.

Os Coordenadores, o Editor e, seguramente, também os Autores, agradecem todas as sugestões relativas à estrutura da Coleção ou de qualquer de suas partes, bem como a identificação de falhas ou incorreções, infelizmente sempre possíveis, que lhes sejam encaminhadas pelo leitor.

Literatura Recomendada

- Anciñes, W. & Cassiolato, J.E. Bietecnologia: seus impactes no setor industrial. CNPq, Brasilia, 1985.
- Hachn, H. Bioquimica de las fermentaciones. Aguilar S.A. de Ediciones, Madri, 1956.
 - 3) Jonas, R. GRF Scientific Annual Report (pp. 35-46). Alemanha, 1990.
- Paes de Carvalho, A. Patentes para a Biojecnologia. Apresentado à Academia Bravileira de Ciências em 6.12.1993.

PREFÁCIO

Cuando la colección "Biotecnologia", editada por los profesores Eugénio Aquarone, Walter Borzani y Urgel de Almeida Lima, apareció en 1975, causó un hondo impacto entre los biotecnólogos latinoamericanos. Se trató de la primera obra sobre el tema escrita y publicada en nuestra región y representó una contribución especialmente valiosa al estudio y enseñanza de esa pujante disciplina.

"Biotecnologia" constó originalmente de tres volúmenes: Tecnologia das Fermentações, Tópicos de Microbiologia Industrial y Engenharia Bioquímica, a los cuales se sumó en 1981 Corresão Microbiológica y luego Alimentos e Bebidas produzidos por Fermentação en 1983. Ahora, pasados ya más de veinte años, los mismos editores, com la participación del profesor Willibaldo Schmidell, nos brindam la oportunidad de apreciar y disfrutar la nueva colección "Biotecnologia Industrial" como una sucesora natural de "Biotecnologia". El contenido de la nueva obra há sido totalmente renovado y actualizado en concordancia com los notables avances experimentados por el conocimiento en esta área en las últimas décadas, incluyendo las modernas técnicas de la ingeniería genética y el uso de microorganismos recombinantes en bioprocesos.

La nueva colección está dividida en cuatro volúmenes que abarcan los mas variados tópicos relacionados com la biotecnología industrial: Fundamentos, Ingeniería Bioquímica, Procesos Fermentáticos y Enzimáticos y Biotecnología en la Producción de Alimentos. En total son 74 capítulos escritos por distinguidos especialistas brasileros, conteniendo información actualizada acerca tanto de los espectos básicos como de los aplicados de la utilización de células microbianas y no microbianas para finalidades productivas.

El Volumen 1, Fundamentos, entrega un completo panorama del estado del conocimiento en microbiología, genética, bioquímica y enzimología, finalizando com un panorama de las aplicaciones industriales de la biotecnología, abriendo así el camino a los próximos volúmenes. En el Volumen 2, Ingeniería Bioquímica, se exponen los principales aspectos relacionados com la cuantificación de los procesos microbianos y enzimáticos y el diseño y operación de los equipos de proceso requeridos en una instalación industrial. El Volumen 3, Procesos Fermentativos y Enzimáticos, presenta y discute la aplicación de los microorganismos a la producción de una amplia gama de metabolitos y enzimas de interés práctico, el uso de enzimas como biocatalizadores industriales y la aplicación de los procesos microbianos a diversos sectores industriales y a la descontaminación de efluentes líquidos y residuos sólidos. Finalmente, el Volumen 4, Biotecnología en la Producción de Alimentos,

detalla la aplicación de la biotecnología a una amplia variedad de industrias de ese importante sector.

Por su estructura y contenido, y por la indiscutible autoridad de sus editores y autores, estoy cierto que Biotecnologia Industrial está destinada a constituirse en una obra insustituíble para la enseñanza universitaria de pre y post-grado, así como también en una valiosa fuente de consulta para el biotecnólogo en la industria.

Fernando Acevedo Profesor Escuela de Ingeniería Bioquímica Universidad Católica de Valparaiso Valparaiso, Chile

AUTORES

Ana Clara Guerrini Schenberg

Profession Dautora

Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomedicas. Av. Prof. Linea Prestes, 1374 05508-900, São Paulo, SP, Brasil.

Bayardo Baptista Torres

Professor Douter

Universidade de São Paulo Instituto de Ouimica. Av. Prof. Linea Prestes, 748 05508-900, São Paulo, SP, Brasil

Flávio Alterthum

Professor Tripler

Universidade de São Panto. Instituto de Ciências Biomedicas Av. Prof. Linea Prestes, 1374 05508-900, São Paulo, SP, Brasil

João Lúcio de Azavedo

Professor Titerlan

Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Caixa Postal 9 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil

Luiz Carlos Basso

Professor Douber Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura Luiz "de Queirez" Caixa Postal 9 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil

Luiz Eduardo Gulierrez

Professor Tuerfar

Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luizde Oueimz" Caisa Postal 9. 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil

Maria Ligia C. Carvalhal.

Professora Doutore.

Universidade de São Paulo Instituto de Ciéncias Biomédicas: Av. Prof. Lineu Prestes, 1374 05508-900, 5ão Paulo, SP, Brasil

Olto Jesu Crocomo

Professor Tituler

Universidade de São Faulo Escola Superior de Agricultura "Luizde Oucima" Caisa Poetal 9 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil-

Walter Borzani

Professor Pleno

Centro Universitàrio do Instituto Mauá de Tecnologia Escola de Engenharia Maua Departamento de Engenharia Química: e de Alimentos Praca Mauá, 1 09580-900, Sáp Cactano do Sul. 5P. Brasil

CONTEÚDO

1	ELEV	VENTOS DE WICKORIOFOCIA	
	1	Introdução à Microbintogra	
	2	Specifical people of people of	74
	3	Numero necrebano	4
	4	New side of large	1-
	5	Crescimento microbiano .	341
	- 0	l'aptre le fles ancronga, somos pero seas se magentes, usucos	27
	7	Controle pela ação de agontes químicos	74
		Bionografia .	7
2	TÉCN	ICAS BASICAS EM MICROBIOLOGIA	3
	2	Segurança no laboratório sur amaneneses -	3.
	2.7	Preparo de mesos de cultur	
	3.4	Techs as de asseption	39
	* +	astrumentos de prigrobiologista	4
	2 -	Métodos de anoculação	4
	5,84	Culturas puras	40
	7	Mejos de calcura e la di per de la pasto per a l'alcuro xilos.	47
	2.8	Notice and standard proportional and microscy, the track	15
	7.9	Coloração de microrganismos	76.
		Referências bibliograficas	ml
		Leitura comptementati	rsi)
3	ELEC	MENTOS DE GENÉTICA DE MICRORGANISMOS	13
	4.1	transacau	0.
	3.2	No objection	
	3.3	Receptibility of the executivation of	4
	3,4	Heranca ഉത്ത്യന്ന് നട്ടത് ബാദ് ലെ സാന്ത്രസ്റ്റേൻ വിത്രാ	4
	3.5	Considerações finais	14
		Referências bibliográficas	ı
4	ELE	MENTOS DE ENGENHARIA GENÉTICA	٦
	± ı	ntroping is	
	4.2	e acamas de resimplaci es lisata es madeco ares lini ordam a municipata	
		do DNA em pontos específicos	15
	4.3	volutes geneticise as materials de DNA que ventra, in a promagaçõe	
		dos trasmentos de DNA de interesse	17)
		• 1	

YIX

	4 +	Constructed in its made by a recombinante differentes estrategias	326
	4.5	Papressa da informação genetica heterologa	137
	4.6	Isoiamento do gene clonado	130
	4.7	Transformação gene ica da cela la vivil diferentes aistemas	
		hospederes do . Na recombinante	413
	4.8	Questions de sire li arco il preservacio ambientali	46
		Kerk tendas o phiedra acis	42
		Lettera recomensada	, S(
5	E1 E.	MENTOS DE ENZIMOLOGIA	
2	51		151
	-	Introdução	151
	5,2	Estrutura das enzimas	15
	5.3	Ação catautica das enzimas	164
	54	mikingaci kark in dan lersonna ada	0.5
	5.5	Requirigio valut signido enzimato a	-06
	5.6	Tis derica do maio sobre a atorica de environtiga	66
	5.7		$_{A}T_{A}$
	5.8	Messida da atividade ensimática	174
	5.9	Classificação e nomenclatura	175
		Letturas complementares and a control of the complementares	176
6	CAN	NINHOS METABÓLICOS	122
	6.1	Introdução	177
	ь 2	anocessos de cote nea de con ne a	78
	6.3		193
		Referencias bibliograficas	96
7	CIMÉ	TICA DE REAÇÕES ENZIMÁTICAS	97
*	7.1		197
	72	Medida de velocidade	
	73	Inflyence cas concentratives as or zero e de substrato	198
	7.4	La de Michaeus e Menten	149
	- 5		207
		Incluencia da cencocratiga	2.3
	7.5		2.2
	77	Comentarios finais	5.9
		Les cura reconvendada - Lancia and an	2.6
8	TERA	MODINÂMICA DE REAÇÕES ENZIMÁTIÇAS	2 -
	8	Introdução	2,7
	8.2		219
	8.3	Os raveis de energia livre	
			247
		Literati na recomenciada	247
9	PRO		249
40	20.00	1146 C 1 20 1 2 C 2 C 2 C 2 C 2 C 2 C 2 C 2 C 2 C 2	
10	ALG	UMAS APLICAÇÕES INDUSTRIAIS	253

CONTEÚDO VOLUME 2

1	ENGENHARIA BIOQUIMICA: UMA APLICAÇÃO SUI GENERIS		
		NGENHARIA QUÍMICA	
		dteraum recomendada	٦
2	4415	TORGANISMOS E MEIOS DE CULTURA PARA UTILIZAÇÃO	
4		ISTRIAL	5
	2.	Introdução	4
	22	Fontes de misrorganismos de misrosse	
	7	aga heriori, sedimenaceis de mai forganismo is modos de co-cula	
		para appração industrial	(
	2.4	Considerações finais	1
		Referências bibliográ a las	h F
3	ESTE	RILIZAÇÃO DO EQUIPAMENTO	4
	3	Introdução como acomo ac	
	3.2	Terminotogia e modo de stuação	71
	3.3	Esterilização por agentes tísticos	73
	3.1	Filteritary at indicate per a reflect quarter to	7,1
		Referências bilbiográficas	1:
4	ESTE	R LIZAÇÃO DE MEIOS DE FERMENTAÇÃO POR	
	AQU	ECIMENTO COM YAPOR	41
	4.1	Introdução	41
	4.7	Laserigal summing the price each decision long pure along the con-	44
	→ 3	emeterada cestro que contras de montegaras nos	4
	++	Description of a discussion of their common ment detected datestor. Pages:	3
	±6. ™	Comprairing one general to personal and the decomposite opens and	٦ 5
	4.6	as the description of restorm averaging party of a reset of securitarious	- A
	4.7	China as the femiliar of corps, a taken and autobased outs area	the contract of the contract o
		Literatura recomendada	
5	ESTE	ERILIZAÇÃO DE AR	6
	5	Introc. Co.	in the
	52	Aerossóis mecrobianos	- O
	5.3	Amostradores	-
	5.4	Métodos para a esterifização do or	ч
	5.5	Considerações finais autorio -	4
		Referencias billingsificas	,

6	CINÉ	TICA DE PROCESSOS FERMENTATIVOS		QЗ
	6.1	Introdução		493
	6.2	Parâmetros de fermentação		45
	6.3	Cálculo das velocidades		O.
	6.4	Acurva de crescimento microbiano		33
	6.5	Classificação dos processos fermantativos		37
	6.6	fluencia da començação de substrate sobre a velocidade		
		especial is de cress about the second		0
		Apéndice conservation conservation of the cons	-	
		Referências bibliográficas		·2"
7	MOD	ELAGEM MATEMATICA E SIMULAÇÃO DE PROCESSOS		
	FERA	RENTATIVOS		23
	7.1	Introdução.	MI	123
	2	Formulação com moderos matematicos da penoreses termenta 1995		24
	TR	Spose de parametros do medelo jorniciado		48
	7.4	Avacação do modete matemático		h-h
	7.5	Simulação de processos rermentacivos		_ 2
		References bibacycrafters		74
8	BIOR	REATORES E PROCESSOS FERMENTATIVOS		74
	8.1	Introdução.		79
	8.2	 Insoftencer nos bierreatures 		80
	43	cormas de conduçar de um processe termentativo		88
	8,4	Exemples de comparação de desempenho de bautreatores		29
		Referencias buy lograficas		FHE
9	FERA	AENTAÇÃO DESCONTÍNUA		43
	91	Fermentação descontinua		93
	9.2	Inóculo		,94
	9.3	Mosto		:46
	9.4	Ciassificação amendo		99
	9.5	Número de domas	_	200
		Referências bibliograficas		204
10	FERA	AENTAÇÃO DESCONTÍNUA ALIMENTADA		205
1.4	10.1	Johnston		205
	1 1 2	Applications of the second of		107
	10	Ciassifi acid		210
	10	Modelos matemáticos	54	212
	5.1	Retriencias bubling radicas		7 b
11	CCDA	MENTAÇÃO SEMICONTÍNUA.		2.9
	1.1	Definicky ************************************		219
	46.0	Produte reade in processo semicordones		220
	11.3	Comentation finance		222
	E I O	Returen, a populagraficas		222

12	FERA	NENTAÇÃO CONTÍNUA	
	.2.	Concertos básicos	
		arrange risk indicated a larger transport of the property of the second	
		so descontinuo	
	.23	Formus de operação no sistema contínuo	
	12.4	Formação de produtos no sistema continuo	- E
		Referências bibliográficas	
13	FFRA	RENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO	4
	13.1	Introdução	- 1
		A company of the property of the second	45
		$M_{B,B} = ar + m$ is a quarter $(a) = r + m$ is	
	1	Stated in the carbon state was some seeking	7
	~	But he ship and in michinisches to the second	4
	.36	Controles do processo	
	137	Vantagent e desvantagens	rst
	3,8	Exemples de cases	-
		Referências bibliograficas	٦
14	AGIT	ACÃO E AERACAO EM BIORREATORES	٦
	+	mission in formations in All South	7
	4 -	News and Caracle Care with the 2000 to	7.4
	4.5	Commercial de significación de deliberación de la companya del companya de la companya del companya de la compa	200
	4.4	priese periode as a la l	. 14
	4.5	Brans on total delivery in the same of the particular attention	G pa
	14.6	Considerações fineia	7.
		Referências bibliograficas	74
15	VARI	AÇÃO DE ESCALA	
		Introdução.	7
	37	the begins process of the control of the smallet	1 4
	3		44
	154		
	15.5	Considerações firmis	
		Referèncias bibliograficas	1
16	BC41	TORES COM CELULAS IMOBILIZADAS	4.3
		Introdução	-
	16.2	Métodos de imotálização	
	16.3	Tipes de biogreptores empregados	Leg
	6.4	Aspectos relativos do transporte de massa	7e 3
	4	The part of the state of the control of the state of	lar p-
	6.6	Conclusões	
	1,137.3	Referências bibliograficas	
4.7	BA 44		
17		ORES COM ENZIMAS IMOBILIZADAS	
	171	Introdução.	
	172	Reatores enzimáticos	1,0
	17.3	Exemplos de processos enzimáticos Referências hibili o rafinas	

18	AUTO	MAÇÃO E CONTROLE DE PROCESSOS FERMENTATIVOS	391
	18.1	Introdução.	397
	K	though its insent intention para marginalization and limba out top case on	
		fermentations	39%
	8	unit on the analysis were destruction for	4
		Referências bibliograficas	425
19	OPER	RAÇÃO DE INSTALAÇÕES INDUSTRIAIS DE	
*-		MENTACAO	427
	9	Little rate de les paratiques per	42
	No.	throughout a distance of the same terms to the same terms to the	di. A
		Charles of unit ad it a	4.
		a feeding in the same place of the description of the absent that	6.4
	ų	Livings to personal and structe rementation	4
		Burting a la	4.45
20	COM	STRUÇÃO DE EQUIPAMENTOS DE FERMENTAÇÃO	adi
24		Introducão	441
	40 1 21	Carante no many are an impatiences per at the first terrain in	elet i
	21	cellulas an mais	du 7
		CHUIZS All Males	MM 2
	20.3	Construcio do lementador nomenamento de la construción de la const	446
	20.4	Cultivo de cétalas animais	468
	71 =	Arterio, no elemento remojno della como consecuto restricto. Casto di	
		biosseguranea	470
	71	valvane purendores o our	+59
	20.7	Outros tipos de teatores	485
		Bibliografia	469
71	P1121	FICAÇÃO DE PRODUTOS BIOTECNOLÓGICOS	434
	1 SPITIS	TIT SO AGE I	14
	23	A CANADA	al Tr Jin na
	71	Kormpanyot e das mis nabe as se	4 4 5 1
	21.4	Precipilação	405
	1.2	Ultrafiltração	
	Le	Figure in sistemas is how use popular	QU/
	1.4	the state of the s	7.
	4	Tratamentos finais	
	. 1		5.4
		Copes were appropriate to the cooperation to	
			epinde November
		Returnings of ingranicas	77
22		CTOS ECONÔMICOS	411
	22 1	Introdução	523
	7.7	Considerate established as determined army as a was relações	
		existed assembly exists with extraoring a	25.3
		A harber da Anathricade ex meditor à	п, М
	2.4	Age of the dark to be to decrease by the fall of	4 14
	22 5	Metadas de as diacas de pos estimeno	
		Ki terration to mile compating to	No.

CONTEÚDO

VOLUME 5

1	PRO	DUÇÃO DE ETANOL	
	1.1	Importànga	i
	1.2	Vina de obtenção	2
	1.3	Matérias-primas composição e conservação	3
	4	Preparação dos meios	7
	Е	Fermentação alcuótica	- 11
	4.6	Fatores que atetam a fermientoção	
		Correção das mostos	20
	F	Prepare do uniculo -	20
	L	Verito sção prática da poreza das fermentações	23
	lt.p	Sistemas de fermentação	24 29
	E .	Fermentação accoólica contínua	28
	2	Sales de termentação	29
	1	Recipientes de termentação	2.7 94)
	, 14	Des haght	141
	=	Retificação	3-
	i 145	Prática da retificação undustria	. 36
	1 17	Desidratação do elanol	34
		Bibliografia	
2	PRO	DUÇÃO DE ÁCIDOS	+-
	2.5	htrodução	45
	2.2	Açıdo cítrico	4.1
	2.3	Ácido itacômico	50 10
	2.4	Aculo glucoreco e glucono-5-lactoria	10 54
	2.5	Acido Maro	ne 1
	2.6	Oxogluconatos	
		Biblingrafia	58
3	PRO	DUÇÃO DE SOLVENTES	6
	3.1	Introdução -	6
	3.2	Fermentação acetono-butanólica	62
	3.3	Fermentação butanol-isopropanol	1
	3,4	Fermentação acetona-etanol	
		Bibliografia	7)
4	PRO	DUÇÃO DE VITAMINAS	8
	4.1	In tendução	k
	4.7	Cianocobalamina	8
	4.3	Riboflavura	. 8
	4.4	Acido riscorbido	88

	43	Personal productions - Engineering for immediate to	42
		Bibliografia	1
5	PROD	DUCÃO DE ANTIBIÓTICOS	
	5.1	Introductio.	
	5.2	Antibióboss Briartámicos	
		b1 1 _N 1	1
6	PROC	DUCÃO DE POLISSACARIDEOS	
_	6.1	Introducão	- 2
	6.2	Agentes de viscondade	7-
	6.3	Polistacarideos gelevicantes	44
	es a	P sale again to see see the second section to	LN
	es a	the event again a property only a more annual discount	- 1
		Sibliografia	[4
7	PROC	DUCÃO DE AMINGACIDOS	
-		Introducão mana	16.76
	7.2	Usos comerciais dos anancia, dos	-
	7.3	Métodos de produção	
	24	Cepas para a produção direta de ammodeidos	100
	7.5	Controle de processo	
	7.6	Recuperação de produto	
	77	Prison, and the dis-	-4
		Bibling at	
	PROC	DUCAD DE ESTEROIDES	100
	N.	Introducão amunicipares	Na.
	8.2	O mando das transformações	74.
	is.	The Burgary decided to a feet the balance	- L
	8.4	Toenologia da biotransformação	la/sp
	i.	"hoden sign of the new me also person to many to we	-1-
	8.6	Perspectivas futuras	40
		hibliografia	4
	BROG	DUCAD DE MICRORCANISMOS	-
-	N M COL	Introdução e breve histórico	-04
	Ÿ.	Francisco de la constante de l	
	7.7	Programme against all trace south	2.
	9.4	Estudo de casos de produção de microganismos	1
	M E	The state of the s	
	7	Bet ografia museumen en e	. 4
4.5		OUCAO DE POLIESTERES BACTERIANOS	
10	PRU		7.4
	0.0	Promotion in	2 4
	0.2	Polifudromatearoates (PHAs)	
	.0.3	Metabolismo de PHAs	
	104	Produção de PHB e P3HB-co-3HV	7,
	Α.		1
	·0.6	Perspectivas futuras para PHAs	.45
		labliografia	. 42

1 2 Processo fermentation .	
1.3 Processo fermentaviro	
I 4 Separação de toxinas	
11 5 Ensaró e formulação	14.5
11.6 Comercialização e apucação	7, .
11.7 Principais avanços e limitações	2
Bibliografia	20.4
12 PRODUÇÃO DE INOCULANTES AGRICOLAS	37%
ntrodução.	
17.5 story obotos para a laçar artiogica de la origina EBN - in-	
Jog unvirtostas.	2.7
129 processes & proof our deciment a resignary FBN one log tentralists.	240
12.a Inoculantes micorrizicos	No.
125 a productive decide the ulanties also search ingoveryments may	3 1
12.6 Considerações finais	W 1
Bibliografia	4
13 PRODUÇÃO DE VACINAS	4
13.a Introdução .	₩
13.2 Hastorico	7 47
13.3 Tipos de contendos por vacinas	4. 14
3.4 Principais tipos de vacinas	
13.5 A fermentação na produção de vactnas .	
23.b of products deviatives three process than	3
and the state of t	5 4 In
13.9 Note in trans. Bibliograma	
· ·	46
14 PRODUÇÃO DE ENZIMAS MICROBIANAS	351
	354
14.2 Produção industrial de enzimas Bibliografia	352
L4	
15 PRODUÇÃO DE ENZIMAS INDUSTRIAIS DE ORIGEM ANIMAL	353
15 Introdução	363
.5.2 Pancreatina	363
25.3 Lipsina	364
25.4 Burna wa s Sin Catalise	364
Bibliografia	
	Ìnti
16 PRODUÇÃO DE ENZIMAS INDUSTRIAIS DE ORIGEM VEGETAL	
6 Papaina. 16.2 Producão de papaina .	M)
16.2 Produção de papaina . 16.3 Bromelina	Sh."
16.4 Fecina	1
16.5 Malle	7.4
Bibliografia	b

171 introdução manus e e e e e e e e e e e e e e e e e e e	
17.3 Purificação baseada na solubilidade 17.4 Purificação baseada na carga	
17.4 Purificação baseada na carga	
Signature for the group of the Third De	36)
	382
F 1 Flore A 1	74
	.4.
177 Concentração	357
Bibliografia	389
18 IMOBILIZAÇÃO DE ENZIMAS	16
8.1 Introducão	391
18.2 Métodos de mobilização	391
"	
* 4	14
tR.5 Conclusão	402
7 Harring	4
19 ALGUNIAS APLICAÇÕES DE ENZIMAS	3.5
19.1 Introducão morno	405
13,1 Ottobaliga (marine) (marine) (marine)	4.
19.3 Enz.mas em detensentes	408
No. 10 to 10	
0 1 1 1 1 1 1 1 1	4
9.7 Usos diversos	471
Bibliografia	4.4.76
	4
20.1 Introdução	
	=
	416
20,4 A meterus-prima a fecular control of	
The property of the state of th	.,
	426
	4
a grant of the distance	result
A NOTE OF THE STREET	
20.11 Novembrondulos	452
20.11 Novoe produtos - de la compania I	452
20.11 Novoe produtos	452 49
20.11 Novoe produtos Britis III de la Compania II della Com	452 49 E
20.11 Novos produtos Branco No	452 49 E
20.11 Novos produtos Burning to Apin I Apin I Appel E CELULOSE 21 atrodução mana amazana	452 49 E 465
20.11 Novee produtes Here is the second of	452 49 E 465 465
20.11 Novee produtes Production of the second of the seco	452 49 E 465 465
20.11 Novee produtes The state of the state	452 49 E 465 465
20.11 Novee produtes Production of the second of the seco	452 49 E 465 400 400

CONTEÚDO

1 GENERALIC	SADES SOBRE	BEBIDAS	ALCOOL	IÇAS
-------------	-------------	---------	--------	------

	7.2	Legistação brasueira	
	1.3	Cervejas	- 4
	4	Vinhos	 4
	. 5	Bebidas por mistura	12
	. 6	Bebidas destiladas	asli
	7	Rebulas an indicadas	 18
		Bibliografia	11
2	TEĆN	POLOGIA DO VINHO	/1
	2.1	Definiques le vinic e de emplogra	 21
	2.2	Composição do vinho	72.3
	2.3	Uvas para vinho	30
	2.4	Composição física e quienica da uva madura	31
	2.5	Vindimi	34
	2.6	Correções do mosto	. 35
	2.7	Microbiologia do visito	. 99
	2.8	Fermentações	43
	2.9	Vinchçação	47
	2.10	Clarificação de vinho	60
	2.11	Conservação	63
	2.12	Envethecimento de virthos	600
	2 13	Accetações no vinho	65
		Bibuografia	67
3	TECH	IOLOGIA DA SIDRA.	69
	3	Definições de sidra	A0
	3.2	Maçãs para sidra summinos monocomo en	69
	3.3	Fermentação	74
	3.4	Tecnologia	76
	3.5	Fermeniação algodica	85
	3.6	Езтавиницион съосидент	BH
	3.7	Clarificação	85
	3.8	Filtração	Sb
	3.4	Auterações na sidra	85
	3 10	Caracteristicas discas e quinness de produte fina. — sidra Bibliografia	85 9

XXVI

4	CERV	/E/A	ıF.
	4.1	Introdução.	4.
	+2	["rgislação brasiteira	9
	4.3	Matérias-primas	4"
	4.4	Leveduras e baciónos	¥
	+ 5	Processamento	
	4.6	Qualiquade da cerveja	ц
	4.7	Tipes de cerveja	4,3
		Bibliografia	1
5	AGU.	ARDENTES	4.
	5.1	introdução	1"
	5.2	Constitutes das cebicas ar curporis adas iguardenais	46
	5.3	Definication	+
	5.4	Hebidas (ermeto-destilados e dest to-retalicadas	4
	5.5	Aguardente de cana-de-oçucar	6
	n fi	On track aggraphic res	AL AL
	5.7	15 Insess de identionade	
		Bibnografia	JSI
6	-	AGRES	. K
	6.1	Introdução e histórico	H
	6.2	Padropização e tegistação	Fja.
	63	Terminologia vinagretta	h Ni
	6.4	Materios primas	18
	6.5	Microrganismos	156
	6.6	Rendimento e produtividade	2.11
		Expressions afetaring quality ade, his violagin	19
	6.8	Bioquimida da fermentação acética	7
	6.9	Processos de fabricação	7 7 7 150
	6 0	Comparação entre processos	21.0
	6 .1	Tipos de vinagres	71
	6 2	Transporte fina	7,
	6.43	Envelheramento managara. Matemas resistentes ao ácido aculido _{munto}	
	6.14		1
	6.35	Alterações e delertos Laos e aplicações	21.
	6.16 6.17		2 H
	0/17	Resumbassansansansansansansansansansansansansa	
-	1.67	ES FERMENTADOS	217
7			24 F
		Legistação	2
	12	er in toger the prostude of the abguers duths fermer actos	-
			77
-678-		Babtugrafia	595
46		I/OS	331
	9.1	Introdução	22
		Composição e ator outro coma	7.5
		Classificação	22:
	8.4	Materia-prima e ingrédientes	66

	B.5	Processo de fabricação de quejos	234
	8.6	Os diferentes tipos de quego	2+1
	B 7	 2 M Bracilio después seu de rabindação de queims 	241
		Bibliografia	231
9	MAN	ITEIGAS	235
	9	Legista, ac	251
	9.2	Fabricação	214
	93	Etapas do processo descontínuo de producto	257
	9.4	Processo continuo de produção	254
	9.5	Embalagem	744
	9.6	Armazenamento	255
	9.7	Rendimento mantergueiro	755€
	9.8	Defeitos da mantetga	250
	9 10	Montesgo de garrafa	256
		Bibliografia	257
10	FERA	MENTAÇÃO LÁTICA DE HORTALIÇAS E AZEITONAS.	254
	6.4	Introdução	269
	10.2	Produtos fermeniados	270
	0.3	Microbiologia da remientação	272
	10.4	O processo de fermentação lática	277
	10.5	Azertonas	. 293
		Bibliografia	302
11	PESC	ADO FERMENTADO	105
	111	Introdução	$_{n},[j])^{r_{0}}$
	11.2	Pestado como matéria-prima	306
	1.3	Proxess, de termentação e o pescado	-3,
		Bibliografia	31
12	CACAU		
	121	Introdução	347
	1.7.2	Ext afterestiparate para a although, document compare a	3.25
	2.3	Estado quimiro e ras robassigno da obienças de cacas comercial	3.5
	2.4	Conordenisticas revais das amor deus de lucationos oprocessamento.	356
	2.5	viass traçar collación deterromação de qua icader	36
	7 A	Composição que mica de carate	3605
	.27	Manufatura	361
		Bibliografia	363
13	PÃO	· Managariani · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	165
	13.1	Histórico	145
	13.2	Mosgem do Imgo	106
	3,	otoricia, de paririyasso, sa anniha le trigo	367
	3.4	Características e funções dos argredientos	264
	3,5	Processamento da pão	2(6)
		Bibliografia anamana e e e e e e e e e	5,50

XXVIII

14	APL	ICAÇÕES DE ENZIMAS NA TECNOLOGIA DE ALIMENTOS	381
	14	introdução.	. 381
	4 -	Use og enzinnes em på die agag	4250
	14.3	Univariation of the different delignment	391
	la a	Use de en armas na undirector de apages de moras	398
	t + x	eso de enzimas na modaticação. To proteinas	441
	4.5	e so de enzimas na industria de la liginos	\rightarrow Π^{c}
	4.7	aso do enzimas em bebidas an ixiligas.	404
	7 ♣ 9	Aprilações davietsas da etizi mais	4 ,
		Blokog, a la	4 8
15		TEINAS DE ORIGEM MICROBIANA	42
	15.	Introdução americano de monte	. 42
	15.2	Bactérias	422
	15.3	Fungas	422
	.5.4	Levedume	422
	5,5	Matérias-primas	425
	5,6	et of las veuts de les lar les de alcon	428
	No.	Fabricação de les eur las secas de descrarais de álguna	130
	15.8	Biomassa algal	.439
		Bibliograms	44.3
16	PRO	DUÇÃO DE LIPIDEOS POR MICRORGANISMOS	
	16.1		. 447
	6.2	Becteria: 1 mgos cile/equayas	+49
	6.3	Materias-primes	453
	6.4	Substratos	453
	6.5	Nutrientes	
	6.6	Separação dos lipídeos	156
	6.7	Algor	457
	6本	Elimição da gordusa	40
		Bibuografia	
17		MENTOS ORIENTAIS	465
	71	Introdução	465
		Estoria das termentacios lo scalamentos	466
	7	A in selections in the part of	466
	.7.4	Valores nutritivos	467
	7.5	Consentenção dos aconecios e en registos	5066
	6	West	1665
	17.7	Molho de soja (Shoyu,	476
	17.6		485
		Bibuografia	48B
12	CONS	SERVAÇÃO DE FORRAGENS: SILAGEM	491
	B 1	Introdução	491
		1 мистура са симпадам	447
	18.3	dioquima a di l'agen-	493

				XXIX
	8.4	Microbiologia da silagem		495
	18.5	Stagem provise and		499
	8.6	Produção de silagent de grãos		500
	8.7	Au (tros na snagetr		54.1
	8.8	Problemus comunicina des lagem e causas provios els		503
	8.9	Metas para produção de lima silagem está: 4		503
		Bibliografio		5[4
19	СНА	<u></u>		507
	91	ntrodacão		507
	9.2	Christer production continues		507
	19.3	Composição		570
	9.4	Beneue amento do chá		513
	19.5	Oua plade de chó	- 20	. 917
	19.7	Nomenciatura		518
	19.7	Classificação :		n18
	9.5	Chaires processamentais		519
	9.9	Succomeoselo cha		521
		Bibnografia		522



ELEMENTOS DE MICROBIOLOGIA

Flávio Alterthumm

1.1 Introdução à Microbiologia

A partir da descoberta e into o dos estudos dos microrganismos fixon aro que a divisão dos seres. Nos em dois remos, an maix e plantas ero insujento. O zootogo E.H. Hancker em 1866 soger u al chação di liam terceiro ano, denaminada. Protista, englobabdo as hacterias la gas itungas e protincianos. Essa classificação mostrou se sanistatoria até que estudos máis a la vidos sobre li rajes ruado or utar demonstraram duas categorias de célulais pendaminidas e as eucamobidas. Nas eucamo das nincipios cromisson as. Assiminabada qui car e apresenta no seu interior vários cromisson as. Assiminabada nu car e apresenta no seu interior vários cromisson as. Assiminabada nu car e apresenta no seu interior vários cromisson as. Assiminabada nu car e apresenta no seu interior vários cromisson as. Assiminabado na só na organização da classificação proposta por aireix libadado par só na organização da classificação proposta por aireix libadado par só na organização da classificação proposta por aireix energia e al mento. Remo Plantas iscino Anima al seimo una destina misso agas e protozoarios e seimo Monera (bacterias e ciado-tactérias) (Fig. 11).

Foundando as similandades e di prenças do RNA ribossómico. Ci woese imposi em 1979, uma neva eta sobicação pera no seces vivos. Dominto de Suita-re-reine Arquibacterias, incluindo bacterias metanogenicas, bactérias termó esta bacterias, acidofícias e pacterias, hatofícas. Dominio do Supra reino ibacteria e notivido as domais pacterias e calhobacterias, e Dominio ou Suita-reino. Fucaro dos incluindo plantas, arumais, lungos, principalmos e algas hagi 1.2).

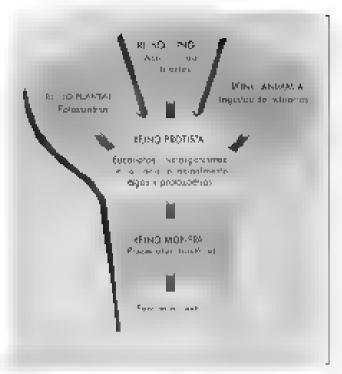
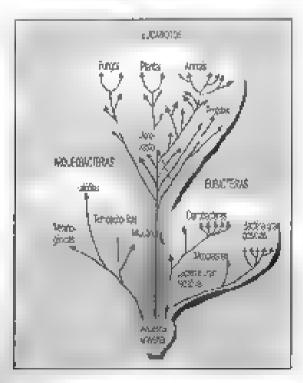


Figure 1.1 Pittribusção do impurir se indice de la come proposa in Whitelese ligare video de la come proposa in mel voet. Kieg. 99.



🌬 🔞 🧸 🧸 gankhos em Pormiosou suprimerios dinarordo forma proposta de 😘 R. Weese.

Por não apresentarem uma estrutura, elujar los virus não são considerala seres vivos o portanto não se enquadram nas olassificações acuma. São formados basicamente por uma porção de materia, genetico. DNA ou KNA in mça
la sistema ancamente envulvidos por protema. A gans virus, com iscritura
más complexa dem sobreposto a camada protó da um involació dipopi itélico.
la virus, quando fora das célujas inão possuem atrivados ne abilida propria
e portanto não sinterizam protopiasora acim crescoo. São sintebizad as pejas
lujas pospeder as nas quais pentiram, pois assumem o comando do moto
maino. O autorento do número de virus não ocorre pejo processo de divisão
emportos organismos celujares más sum texo pora replicação y na

Estra rigida da algorização de medita a ser los conceptos em la incardência BUCARIÓTA AS MROKEN BLIÓTIC AN CARAC PRISTICA Presente. Ausente. Membrana nuclear. Present. Appropriate Non reoda Número de l Maisigur um Um. cromossomes. Reticulo: Presente. Ausente. endoplasmático. Paragenthe. Ausente Aparelho de Golgi-Paragraphs. Ac sentile. Selistore court of Prosente. Ausente: Leggesomas Historias associar as Ap-Effectional and Augstra in портовнотов RD5. 70% Rithushammasi. Presente em plan i si Attractors. Charoptastos. Paragon pulsative come. Automnton. [fings setucial тирдочнить развол Mistophind riax. Miens brana Transporte de détrons As yezes present: Ausente Fagoritose. Ausrate As vezes presente Pinochtora.

Há exceções.

Os y rus são classificados de acerdo com u ácido nacióco composição quemica é mortologia. Embora sejam objetos de estudo da microbillogia inão serái abordados neste capita o inited atorio.

Os stema forma de organização y assisticação e pomenciatura dos seres vivos e chamado de taxonomio. A organização está baseada em seto acreis descendentes sendo o remo o mais ampilie maior e a espécie o mais, specible o comenor. Os demais aiveis são, em ordem decrescente di são, o asse or dem. família e gênero.

A classituação e o arranjo dos organismos em grupos, de preferência obedecendo às relações es olativas. A nomenclatura e a processo de dar no mes às especies existentes. É binominal, sendo o nome científico uma combinação do nome genérico, gênero) seguido da espécie. O nome do genero é minisdo com ema mai iscluia, mas e da especie não, e ambos es nomes são es entos em itálico ou grifado. Exemplos

Sacritaromyres cerevisiae

Escherichia col

phero

Sacritaromyces cerepisme

Escherichia con

pre con

O microscopto toi e a nda é em muitos casos nieq opamente laboratorial mais un lizado no estudo dos mucrorganismos. Há duas categorias principais de lo croscoptos empregados ileptico e eletrônico. Eles diferem na forma pera qua se da a ampliação e visua ização do objeto. Na nucroscopia optica um sistema de ientes manipula um feixe de liza que atravessa il objeto, e chega ao orbo do obsero ador na microscopia eletrônica a luz e substituida por um feixe de eletrónica, e as ientes por um sistema de campo magnético. A microscopia de tase de campo escaro e de fluorescência. A microscopia eletronica permite um aumento de cerca de 400 000 vezes e apresenta variações como a de transmissão e a de varredura.

A Fig. 4.3 apresenta aiguns exemp os comparativias de tamanho de microrganismos, y rus e a labela de equiva nocia das unidades empregadas na microbiologia.

Neste caputi la abordaremos somente aspectos gorare relativos a bacce rias e fungos $% \left(1\right) =\left(1\right) +\left(1\right)$

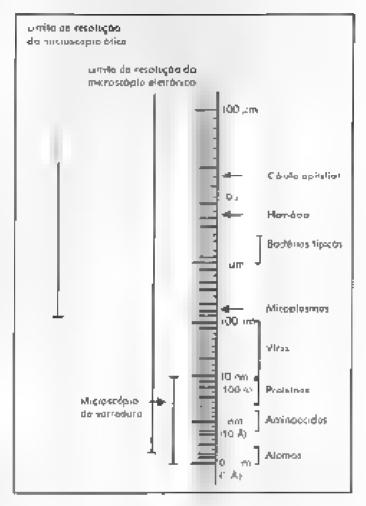


Figura 1.3 — Limbos de resolução dos monoscopios e possibilidades do visualização do células i variênas vinis lassición sur

1.2 - Morfologia e estrutura

1.2 Bacterias

Quando observadas ao microscópo e a maior parte das bactérias apresenta-se em uma das crés formas estéricas, da nocidas ou espiraladas. As das terias de forma estérica denomina mose, qui is e as calindricas, bacillos. Nas espiraladas, quando e corpo é rigido e apresenta var as espira a recebem o nome de espiras e quando nos por el gido porem em torma de virguia da raria espira. recebem a designaças de via vies (Fig. 14)

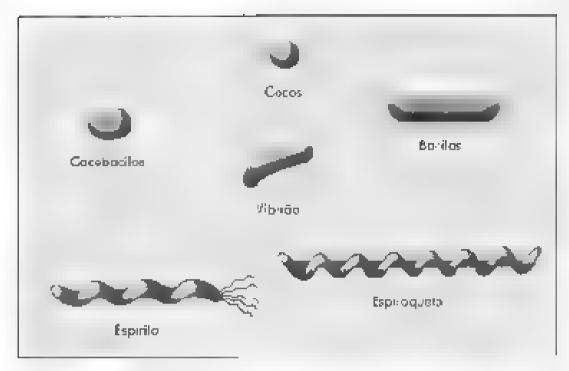


Figure 1.4 Principas formas das battérias.

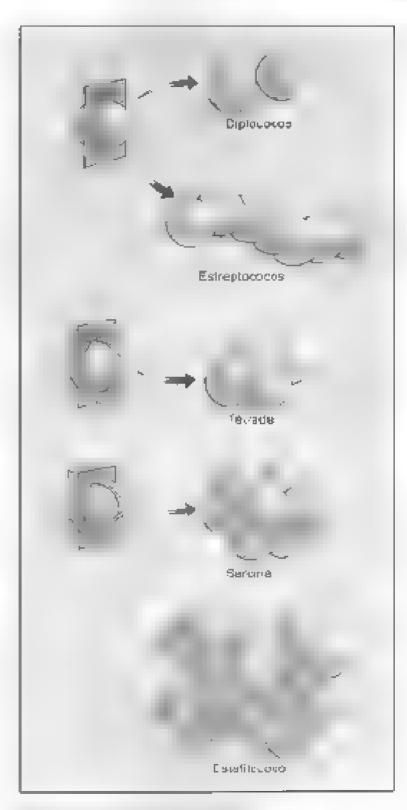
Os vocos, ac se dividerem podem dar or gon a agrupamentos característicos. Se agrupados em pares, são chamados dividendos, em rade as, são chamados estrep agodos e em lachos, i statitudedos. Os cocos que permanecem solados say chamados de micrococos (Fig. 15).

Os bacillos que acise din direm permanecem em caderas são chamados de estreptobacilos.

A martinago, pod milla lik os agriniamentos podem ser me hor observa dos quanto de bactor as apresen am se coradas. O me odo mais i sua de coloración e o de Grami que permire a divisão em dois grandes gri posigram-positivas e gram-negativas.

Consciensheamente las celt las bacterianas são pequenas. O diametro das estermas varia de 1.5 a 4.0 pm, cirquinto que o compriniento da cilindrias raremento il trapas a > 0 m. Recentemente foi describerta a maibliotesta nacrosa mica (0.5 m. de o mprimer la chantando e il terior de peixes que virgim a centenas dir milinos de protundidade nos exeanos.

Quanto a estrutura in célui i barto a na apresente as caracteristicas dos seres procambicos (Fig. 1 6,



40% An all with the local windows and the

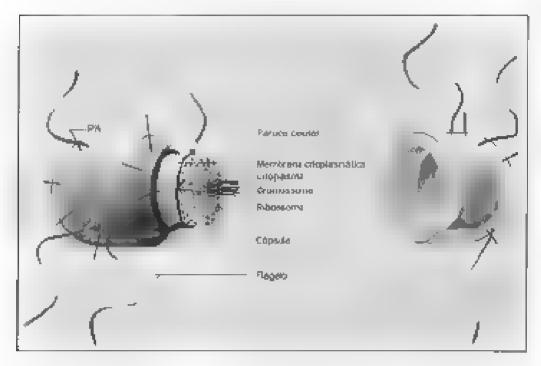


Figure 16. Representação inscuematica de los de la processorica teactional e sues y incipuls escriburo (figural adupada de 15. Processoring) — represión Pupi Control de Principal Pelosaria, Control New Principal 1993).

A cécula é deliminada para membrana campusambient de composição lipoprotécea e de importançia y las Aliem de regular às librora com o meio ambiente a membrana executo várias tunções que, nas células edentiót cas, dependo o de estrucuras especia es processos respizarónios (matecéo dinas a totosamiese (e erop astos), sustentação de ribossomas reticuro lomentação da dinas empudear la solle biossintese de estruturas de superficie.

Externamente à membrana las bacter as possacion ama parede comuta tigual que garar le a forma un réluta ela protege contra a diferença de pres são oso otras entre o ambiente no elo ambiente na pressão dentro da célula pouc ser y oto vezes maior do que rora. A parede é constituída de um arca bouço pasico denominado mucopepo aeu ou pep deoglicano normado de caueras de polissacarideos formulados atternantes de Ni acet Iguilosamina e de acido Ni acet Impramiro lanidas entre si por meio de cadenas peptido as Alesse arcabilidos podem se unar proteinas ipolissacarideos e no caso de bactér as gram negatilias uma fração basiante significativo de tipopo issa carideos.

Algumas baktérias apresentam externamente à parede uma camada mu cosa que quando le aiuda, é fiamada de aigunt Esia tem natureza polipept.

dica ou polissacarid cale lem certos rasos, é muito abundante ipodendo então ter importancia industrial como sucede com as destranas.

No citop asma além do materia, em solução sais minerais aminoácidos poquenas moléculas proteinas açúcares) encribram-se particulas, tais como ribossomos constituidos de RNA e proteina unde ocorre a sintese proteica grânulos de materia, de reserva amido guicogen o apideos ou fosfatos.

O materia inuclear mucleórde) é constituido por um filamento duplo de DNA (um cromossuma) não associado a proteinas e preso a ima invaginação da membrana citoplasmática (mistossoma). Ainda no citoplasma profesios encentrar plasmido si pedaços de DNA circi lares menores que o cromossoma. E es enditicam intormações que embora importantes para a célula não são essenciais ou indispensáveis.

Algumas bactérias móveis apresentam flagens — filamentos longos constituidos de proteina contráti o Fixados a uma estrutura basa, local zada na membrana citoplasmática.

Entre autras estruturas dispensáveis, aigumes baciérias apresentam //mhuas da pro que servem para aderá icra às superficies, permitordo a formação
de biofim es. Há que se destacar a existência de um tipo mais longo de imbrio
a fimbrio accuar que serve de pome entre duas cé ulos por ocasião do
radisferencia de material genérico de uma bacteria macho. El para uma bacteria fêmes (F)

Menção esperial deve ser feita a uma est utura particular apresen ada apenas por certos grupos de bacterias, o esporo Representa uma lase na sida de certas bacterias que se transformam em esporos polímolivos ambia imperfeitamente conhecidos. Consiste numa célula diferente da orma vecerta iva normal: tamanho menor materia inuclear e citoplasma o indensados, baixo teor de água, maior quantidade de calcio e presença de acido dipicoliri co. Alem da mendinaria e toplasmatica o espore e envolvido por satias camadas, que lhe confere um reves imento bascante esperso. O las pecto imperiante dos esporos bacterianos é sua consideravel resistiem a temperaturas superiores a 100°C duronto várias horas. No contrário do que sucede com os esporos de outros organismos não são tormas de reprodução pora cada bacteria se transforma em um esporo e este encontrando exentualmente condições favoráveis, germina produzindo apenas uma bactéria (Fig. 1.7).

A reprodução nas bactér as é felta na grande maioria dos casos, pelo processo da divisão binária simples na qual una celula, as oguado um celem made tamanho o vide se acrimeio, cando ouas célutas-fi nas iguada.

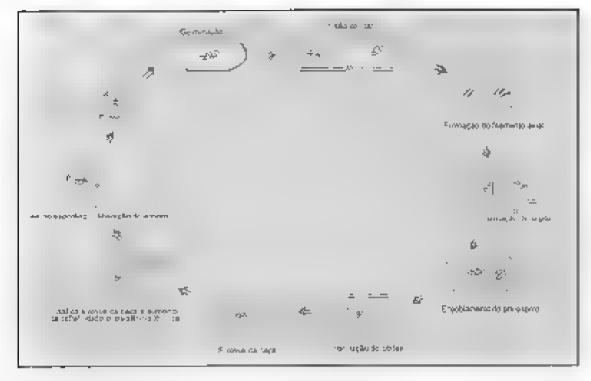


Figura 1.7 Esquerre deformação do endóspora bacteriano.

2.2 Fungos

Os fungos são seres eucarroticos, heterotróficos, que não sintenzam clorofila pursanto não fazem lotosofiliese não armazenam amino como materia, de reserva a sim guidagêma o não tem celulose na parede com au com exceção do a guna fungos aquadoss. São abiquos podendo ser encuntrados no at, solo, água, vegetais e animats.

Do por lo de vista morfològico, e convenit de castarguirdos en terroforas e bolores. Essa distinção não tem vo or taxonomico, pois ambas as formas podem ser encontradas num mesmo grupo de tungos.

As levediaras sacigera mente un culularos, do icoma esforca, oliptila ou framentosa. O tamanho varia de lla 5 ,im de diàmetri, a 5-30 µm de contiprimento.

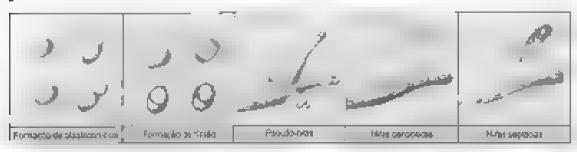


Figure 1.8 com as de apresentação das teveouras resquendar e bolores climica.

Os boiores são constituídos por celulas mu timodeadas (cenócitos i que tormam tubos chamados tifas, ao conjunto de hifas dá-se o nomo de micélo. As hifas podem ser contribas ou septadas Fig. 1.6).

A célula tongica (eveduras e bolores), tem membrina intopusmática i poproteira du a funça, principal é regular as trocas com o meio ambiente. Possu uma paride conter rigidal que confere resistência às pressoes osmoticas e mecanicas. Sua natureza e poussacarid da em maior proporção, contenda fambem proteinas e lipideos. No criopiasma encontramise, aiem dos componentes usuais em so ução, vacúdios, mitocondrias reticulo endoplasmatico, ribossomas, material de reserva (gorduras e carboidratos, O miciro e proamente eucario) co, contem nucleolo, lários cromossomas e historias envolvidos por uma membrana nuclear (Fig. 1.9).

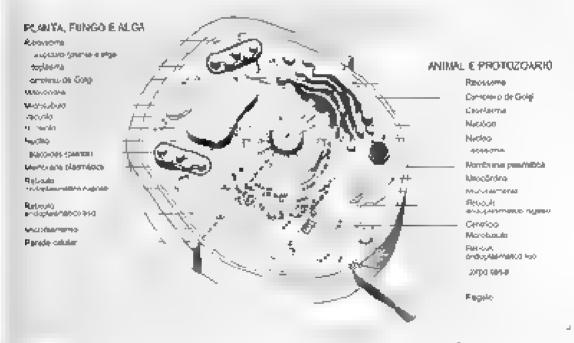


Figure 1.9 Representação requerman la damé in eutra Minima de antima de servicidad Figure europeado nem no ego. An introducto de Genard i Tortora Berde Rii intera esta 1994.

Os lungos aquaticos apresentam flagetes para sua ocomoção e proces fungos passuem ofestas

Os esperos fungicos têm ama importância toda especial pots além de se rem a forma ma sitrequente de reprodução, são os print pars veticulos de disseminação. Os esporos podem ter origem assexuada ou sexuada. A mateira pela qua se formam e se dispñem, constitui elemento, importante na dem figação particularmente nos bolores. Os pos undamentais podem sur visualizados na Fig. 1.10.

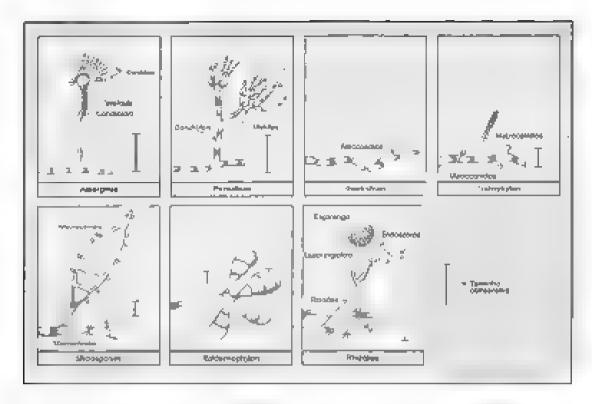


Figura 1.10 Exemplos de formação e rocalização dos esporos fungicios. A burra comparativa representa - 00 μm.

Comdeos Células isoladas ou em cade as, local zadas na extremidade de uma hifa lo conidióforo, frequentemente se originando de uma célula especial o estergos em cutros casos, originam-se por brotamento de conidiologo.

Esporangios poros Esporos incalizados no interior de um saco denominado esporángio, formado na extremidade de uma hita

Artinconideos. Resultam simplesmente da fragmentação de ama hifa

Cramidacandos. Formados por uma ce ula qualquer do micêiro, em totano da qual se desenvolve uma parede espessa. São mais resistentes que os outros tipos de esporos.

Na reprodução sexuado, os esporos são tormados pela união de duas có rulas o fusão de seus núcleos seguida de divisão, o que produz um número variás el de células. Há também, varios tipos contorne segue

Ascusporos. Os esporos tormados, em número de ono. Ficam contidos si interior de um saco, ou asco, tormado pela parede resultante da jusão das duas centias iniciois.

Oosporos Formados pela tusão de ama célula masculina pequena com uma célula termina grande

Basidiosporas. Esporos formados na extremidade de células especiais chamadas basidios. Caracterizam os cogumeios.

zagosponio Consequentes da tosa i de duas celulas iden i an

hemelitante aos bolores, as levedoras podem so reprodizionassexuada ou ladamente. No homeno caso, o processo mais lumante o bili saltiente, ao li resultam cerulas: il has incratmente monores que a cela a vião. A _{de} 1 as cueditas reproduzem-se por ou saltie mai la llicino as bacter as

A reprodução sexuada se faz pela remação de (ε) - peros 1870 é resporos atidos no intenor de um asco.

1.3 - Nutrição microbiana

3.1 — Considerações gerais

Basicamente is necessidades of toticas tos microrgan smos sucis meso sique as te todos, is seres, i vos que para reconsurere seu principiasma e su recepem si se atalidades ex gem tontes de energia e tontes de maurial o aslia Nos seres si periores. Endas a encent amos apenas dois tipos noto. Es

ay no legate a são torossimo de la substancia e morganida.

a la agrando-se exclusivame de la labstancia e morganida.

billos anomalis são de autorativos librendir chengilis el stas de leatções la recasieda contralis por exigir contralingânicas de car ximi

Fintre os microrganismos, principalmente as bacterias, ha uma sariedade, pos intermediacios entre os a asistipos, ne te orados.

1 5.2 - Fontes de energia

As a gas e algumas out originals said to consider that Nas primeday in pigments of principal elactorettial composas plantes di rance i princesso il agente il trada como doacora de eletrons con pidesprenta mente de los gentos il son interese el important sermo electrona de 5 il allo exigente introdete di interese una composata el prigmento de ossibile il cital elactronia electronia de eletronia da composata como entre se eletronia da como entre se eletronia da como entre se eletronia da como entre eletronia de composata elemento de la periorización per exempto o para esse fina como chamiladas de como el como as argonos eletronias son as que exigente diadores en electronia.

Os tungos y a grande mai er a cas bacter as são quimotrotico ebtendo nigra as i istas de reagnes químicas i mae substratos adequados são os da si Si Os ma rorgan amos litetros cos ixedam compostos norganicos enquaticos enquaticos enquaticos enquaticos enquaticos enquaticos enquaticos enquaticos en prometos estados en atramas somente bacter as, abjumas de einsiderare, importancia como complete sa bacterias de genero indicados as sectoras de eina en maior en real atrada antecesada en como como como como atrada substratos sobres sobres, como de elegicio de como de como en estadas na interación de elegicio en de como en proceso de elegicio en elegicio en el como elegicio en el como elegicio en elegicio en el como elegicio el como elegicio en el como elegicio el como elegicio el como elegicio elegicio el como elegicio elegicio el como elegicio el como elegicio elegicio elegicio el como elegicio el

gan, seria a ser e memo. No seg ndo grapo encontrarros se fungaatem de a mezande pumero de ha inches

3.3 Fontes de material piastico.

Page a territory de la marin a la resistement de la antitata amendo mans the stange to always ab trager to regard stragers are reasons as another o tástoro.

for the and Para extra segal extremal and securical bords as a lance there is not related by a particular section. And the area of the services and the services are a services as the services are a services are a services are a services as the services are a services are a services are a services as the services are a service are a services are a service are a services are a service are a service are a service are a services are a service are a serv day arts grown in the read of arts of the tan a mary image is no else our par unarrigina () and eller noted acids more this is ligide all a circum positive tesa managed to a consequent on tambéro ser et exados. Na realidad la comore property significant and the subject to process were at his days per asporting to the englishment for a process advocation may extraor marks are particles of percentage and empty of a mercent position of the sections of the to broady in a way a place to be more Name and other day a paragraph of the transfer of a contract part of the property of the contract of the contrac some are interpreted to see the bear appeal to it does be Nicem in the crasmings abrand on their deals in the letter road at the analysis of the entry part manifel aremosate dos compostos organicos.

part of the Joseph new allede directing to he concludes ge I this deferme a transport a may be early might. person freet mente fill arm sterale i sceniere a liquir i une si fissa fil and the extreme of the break take one in the re-4 South and because the property of the property of the manager for all a recent a man per test and large at midespect up to my or surpressions and a first energy a first atmospherical field misal is appressed to the first section of the firs Programme the programme of the programme allowers are a sections. It seems a gar see request to extrate a dy managera. at at the get take post of a second and the analysis and a the area of the decedas by the good of the residence with a second conproperty and a subject to the contract of the more algumentation is a suggest three or in last first get imprise. to a principalities to gone a soften me begin to be true as every that it had be to great this districts are true in the Library as ria dos microrganismos heterotróficos

A term for a bear of matricegors are any proper receipt to THE PROPERTY OF THE PARTY OF TH

and A gure são recessarios em paratidades apreciates. Trata a la finalidades apreciates para trata a la finalidade en esta en entre ent

the analysis of the month of the month of the month of the month of the control of the month of the month of the month of the control of the month of the granes of the month of the month of the granes of the month of the month

3 4 - Agua

A again not constitution matricate prayer about ordered incorporate sita or recompany discrete regions has been partially socied as make regions whose notices personally managem describations or socied attacks dament facts partially a dament facts or socied and according to a dament facts or a damen

13.5 - Oxigênio almosférico

Composition of the property of the composition of the one opone operate copies for a label to the contract of the contract of which the same of the contract of the contract of the contract of the recognition of the contract of the contr

ers gam an pegarana judah da ta na linerana sus pressogs na mas de s Alm wie ie w in this case for in this partierness again the page includes an physicians in the production rapid discovers and they will the por the transfer of the property of the presence of the leaders and Oxigenio livre

have as he arries and it thus as her tipes or amperiamentals Oc funges so serob is out and in in priente aquerob so

1.4 – Meios de cultura

4 I ~ Considerações geras

Note that the season begins to concern and are more expenses The graduate that the transfer high the highly term to prove the proof. I that a single minute on the second production of the second of the the office busy to the control of decidency, ago by any medical in in the Northead States of the contract of the professional and the contract of the contract tion in the beautiful and constraint and the second and agency and more asset of after their to promies the state had not be to a news of the period of the form the second participation the management of the state of of with the property of a special property make in tailor on company years as the original to the extension of the contract of the contra The strong to particulate the standard of page 10. tradem 2 2 more presents and admiral to the conthe hospital are entranced at the part of the praction grammatican total region may set in dear over a

42 — Composção dos meios de cultura

has need as see his reach graphs harrier that is more of the party of the past was seen a seen a conposity of the equal to the injects conficing to a resp. or completely bear Mit and to applied 70 % PIT A BOOK ON THE HEODIS VOICE HE agua q.e.p 1 L

The society meter prosecution of an descripte describing. The hand the control of the proper consists in the type to proand the property of the contraction of the contract no nem fonte de energi

more than proceedings of the plant partially are feel mesters. but the same at month or a party of a raids or but a raids of an end n territorica non a servicio a se da Parague en se la conthe responsibilities are a consequent throughout service and consequent ções de aerobiose

Tabela 1.2 Composção quimas da cétua cacterana.

Marromoteculas	Massa Secial Co.	viassa 14	celt a	Peso molecular	Numera de modernias ce la	Diferentes apos de moléci, as
² restumb	58.0	1 155,0		4,0 < 10'	2.380.000	1.090
RNA Itota	29,5	59.,()			
23rRNA			32,0	1.0 < L07	48,700	1
16/RNA		r	6,0	5 > 10"	8.700	
5rRNA			1,0	3,9 ×10°	18.700	1
bransrariergia			4.6	45 < 0	2059000	64.
mensagerro			2,4	0	3,60	400
JNA	91	9.0		2.5 %	3	1
- pide	9	26,0		-NE	72 006 000	4*
Lipopolissacarideo	3,4	10,0		4346	1.250.000	1 1
Macocomptexo	2.5	7.0		/904Jm		· 1
rougenic	₂ 5	7.0		0.1	4 360	h
Fotal de magromoléculas	96,1	273,0				
Material em solução	2,9	8,0				
Subunidades.			7.0			
vitaminas, metabólitos	5		1.0			
ютя опдатисля	A"	3				
vlasse secal total	1,000,0	1 284 6				

Mossa de uma bacteria: 9,5 x 10⁻¹²g

Conteúdo aquoso 6,7 x 10¹⁰g

Massa seça de uma bactéria: 2.84 x 10 g

Há qualeo home de trestelegados, cada ama detas, om composiçõe, cardones de ácido, galxos.

be a essertiene de chi tura ad chonarmos. Sig de gli rosci ele contant ana a ser en quadrado ha del nição de sinté nomas contento ago a unia tonto organismo de energia e carbo no (gli case il permit na increso miento de quamitorgano no noficios como, por exempli. Escuentelus colo habitante norma, de incesti so dos mamíferos. Tra a-se de ton organismo de excepcionais copa iosa es ne sintescipias a partir da glicose e dinsistas minerais do meto consegue fabricar todos os componentes de protopinsma. Se quisermos conte do, cultivar uma bacteria com característica atuatrimas seme hantes à fino bacio, fino Salminum applio, ser a necessario a imida gio ase ad timas naturinoacido tripto fano. Si spilo não consegue sinteticar triptofano, que para eta, como definimos

nter ormenor e un tatan de crescimenti. Chitras ampada dos nodem sen n Cultas permi nel contest menore e um nomero cada vez maior de micro re ganismos. O mejo contest la tada sen la iscura a contestado por sua composição é sempre bem definida.

be quiserite scales at increasing stress these extractives messe mean price in some of the content of the conte

43 - Estado físico dos meios de cultura.

Characteristic and ment of the structure of the structure

Fara a serior approver or the terminate and process of necessidad and serior and serior serio

An arm square of the state of the period to a state of the state of th

144 - Meios seletivos e diferenciais

We took the an equipment areas or resonance of the control of the

time to combite the substitute to the second s

1 4.5 - Conservação dos microrganismos

AND CP D P 2 Set that I P s

By the part of the part o 5 14 EN 1 1 5 1 7 1 7 5 1 1 on a salable has that an or artice at a contract of the co k y k a a t y noryten. 176 a Mark to a street of the T men for the proof of Harris State of the State of th * 4 4 4 F 14 M 5.5 and the second of the second o grade to the second of the second of solo ou silica, previamente esteri izados.

la mental, les especia zallas que dentite un almazenam e sent m by terms to prove a sign A man confliction. American I special are in ection ATCC

1.5 – Crescimento microbiano.

5. - Considerações gerais

considerance opiniones man or are estimately up as import to transactions to the first of the second of the basis of the basis of the first of t per tapasana. Assi a la menti si entamanna acció de les de ferramentos e mealso can gerage a macember of maternite resolvance pool prises on order rain a ten over their limited to the contract some and a sample of the the nemarkation of a generalization request models of the mentione mapurpose in a print and so governments on securities a stall quick one angle of the número de individuos.

§ 2 – Medida de crescimento:

the resource of the property of the control of the determinado de várias formas.

at the substitute of the design of the personal transfer and the te faiba dando species ana una gressere da massa me bioto presente. red respectively a content of the second section of the process e parties a come processor of the field or many services of the fete con may be a few metalors time amostre da suspension may copy of the property of the pr grading the exercity to be attached a some Appendix a companies and test a total of a parameter presument and arrest do south or a rout per or track to conter entathe age of the end of the second seco grow to par 40 % % reserve means that we wonders promote and a to the street a region of a straight a to the transfer to select tasa in its saide occasion espera que an ssala la mine interior A ly agent can all the extension specification perday for interest of exdown plant goten and he was not not restricted to the control of the print ser which is not their extent or in term in the short terms to pensão

Francisco de de the property of the second The seal of a declarate and a sea of the sea tertain committees of the first the paint the first terminal and then the property of the state of the property of t to sent imposing a constraint of district back of pine a penterback. para dengrita a carrier to the first decole continue to the prosujão do meto de cultura. End. En la translata a tuda Consentra Para uma dada série de condições, todas — fais métodos são bastante sensiveis e

A tile of reduce a single of the respect to the sense of personance of the contract of the con

the state of the transfer of the state of th

A SERVICE STREET OF THE STREET

From relies proceeding to pure the pure and the pure and

53 - Cresumento exponencal

Charles and a second to a second security of the second se

exponencia listo é lo aumento de numero ou massa se faz segundo uma progressão geométrica.

, atando-se de microrganismos como bactérias, certas algas objectulares e algumas leveduras que se multiplicam pondivisão binar al ternos

$$N = N_0 - 2^n$$
, (1.1)

onde N é o numero de microrganismos ao fim de \circ divisões, ou gerações) e N_n é o número inicial

Empregando os logariamos dos numeros, temos

$$\log N = \log N_o + n \log 2 \tag{1-2}$$

O número de gerações será.

$$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2} \tag{1-3}$$

A velocidade exponers, al de crescimento R é expressa pelo número de gerações na unidade de tempo

$$R := \frac{a}{a} = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2(t - t_0)}$$
 (4-4)

A reciproca de R é o tempo de geração-

$$C = \frac{1}{R} = \frac{1 - t_0}{n} \tag{1.-5}$$

Tais equações entretanio, somente se aplicam a microrganismos que se dividen amanamente e um condições que garantam 100% que viacoliquade. Assim sendo e mais conveniente aplicar-se uma equação mais gera, ondo se lova em consideração a langua da maissa 8 de protoxidama em hinção de tempo:

lisso significa que a veloc dade de cresc mento é proporciona la concentração de microtganismos num instante dado. A fração pela qual a população cresce na unidade de tempo e dada por pilique represen a a reforidade específica de crescamento.

$$\mu = \frac{dX}{X} \frac{dI}{dI}$$
 (1.7)

A integração da expressão (1-6) leva a

$$f_{\mu\nu} \frac{X}{X_{\mu\nu}} = \mu t$$
 8

$$ln X - tn X_b + \mu t \tag{1.9}$$

Transformando pa a logara mos decimais

$$\log X = \log X_0 + \frac{\mu}{2.3} t$$
 (1-.0)

Projetando-se num gráfico os valores do log X contra o tempo, obtem-se ama reta caracter-stica do cresc-mento exponencia.

1 5.4 — Fases do crescimento microbiano

É óbalo que mutra cultura descentipila na condições nã permanecem peas por mute tempo luogo a quantidade de númientes começa a diminuir e produtos do metabilismo microbiano váli se aluminando cada vez mais essas modificações têm uma consideravel influencia sobre o crescimento dos numeros gamismos. Con strumulose um gráfici globa, do crescimento microbiano em cultura desconanda em meio I quido, observa se que a curva representa várias lasos. Pig. 111).

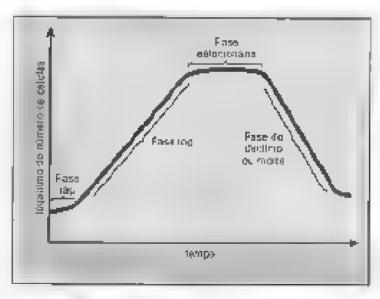


Figure 1 Fases da furva de direcimiento micrograno

a) Piste de las inicialmente há um period em que contagens não reciam aumento de cualitero. Determinações de massa indavia, ge armente demonstram que ha um aumento, retieso de um aumento no lamento dos nitividuos. Essa tase só ocorre quandi de microrganismos semeados provêm de ama altura de ha não mais rim crescimento expendida. É a consequência te uma necessidade de tenovação dos microrganismos que em culturas vehas a producing off a sight mass engine has provided target and substitute. it extends to the terrespective run in the entire to imprince example non-example to the same and a section of the contract of the contract of the contract of the was all to the annual process and the color of a district the proproper to a state test format all to a specific gives the care of appropriate that the same safes are one and at a manager of convergence of the analysis of the security patrici-are in the law time milking parter days of solution a suppression of recording to a tase de lag.

more than the self-sea and the seasons to be the second of th desir is a few money most make a market and a parallel recent at all their residual A contract of the mention the material from set her in the committee of the contract means some ad a side of the contract of the contract contract property ea adaptive independ by overs on he to be the real parameters. the design of the contract of the contract of the first property of the contract of the contra to proceed only and injure some in the company of the Treate type in new a flat field to the engineering. and a recommendable to the another than bousmo etc.).

a section of the following services and and reco Professional distribution of the same of t the wind that the a section is the trade to work and one graphs removed in care of more more a massional and and or ore letter or got dorber in died des statute die das sale much the or to be a speciment that is the straight from in do the first and less to a long age of the relative of property to de O.

Am in I in him the bar ospect on the der on in the records arrest terre or a caracteristic contraction of the contraction of t the sea from a sent a report to be of the permite um rendimento mator

One of the common terms of the present the present that the rungated for specifying and descriped the property of some really assumpts and treating an expension to and a different address a more with the rest of may seed a common mass to enjoy to be to be quarties of a ficiente de alimento.

The content of the month of the spirits of organical names of the decidence of the second of the second ,40) a di usão de oxigenio não se faz suficientemente depressa para suprir as necessidade daque es localizados nas camadas mais profundas do meio

d' Fase de decimo. Depuis de um certo tempo, o numero de organismos que morre toma-se progressivamente superior ao dos que surgem. Eventualmente a cultura se esteriliza. A duração dessa lase é também, extremamente pariavel.

1.5.5 - Cultivo continuo

O que toi descrito refere-se a um crescimento em cultura descontinua, ru qual o meio de cultura não é tenovado. Nesse upi de cultura é aci obser ar que a partir do momento em que o meio é noculado as conduções começam a variar de forma progressiva. Embora muitos estudos possam ser je ados à efectivados pieno êviti nussas concuções, serva idea, estudar o crescimento in crobiano de maneira tal que todos os parametros se mantivessem constantes. Isso se tornou possivel com o processo de cultura continua, um que novo meio de cultura e adicionado constaniemente ao sistema, do qual se retira um volume correspondente i im esquirma do quimitistato encontra se na Fig. 1-12.

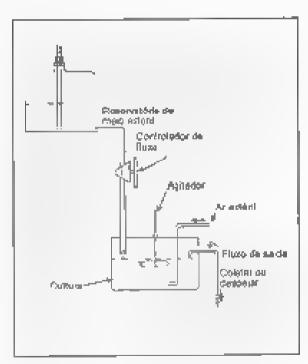


Figura 1.12 Esquema de gormostato

O estudo do cultivo conservo de mirrorganismos taz parte dos objetivos do Capítulo - 2 do Volume 2.

1.5.6 — Fatores que influem no crescimento.

10 5 5 1 0 1 5 5 s willings as 1-1/2-1-1 garden and day to the second of the second o 1 b name 15 a required to 1.1 the salar a extraorbert programme to the discountry terms. make makens to be to make my am per a commence of the entering of the perfect of the perfect of

K p dr was 2 of the fix

mesof los cigo étimo está entre 20 e 40°C

the contract of the second second get in the proof of solo cereais etc. o ó limo se situa entre 20 e 30°C.

b a my fire a second 45 1 0 respectively and the second properties the and a first party of the second p ar har a mr a he really and are garage this was an analysis to the set to be s to be help of the first the the fit has a section to the

the design of his a top two terms and a fine to and a second distribution of the first terms of the contract of C N T 250 4 NO 7 P N A P B P4 C E IA s gar magarisma A a ganan ing mellelik be The state of the s and a second sec I we are the or the first test that s right or the transfer of the contract of all a service of the second property of the second a grant a figure for a sub-compathe design of the same of the above ter a ma and the second s and the second of the second o gar because and a major and a second and

A the his manufacture of the historian

d) Agracan I, ma das consequencias da agitação e promovor ima melhor articán do meio tavorocendo o crescinicinto de acróbios el acadativos. A em tisso, en retanto la agração promoviciama humogeneização dos natrientes no meio de cui lara elama dispersão dos produtos metabolicos, o que também fatreçe o crescimento de maneira apreçia et, inclusivo do microrgan smos anaerobios.

.6 – Controle dos microrganismos pela ação dos agentes físicos

6. - Considerações geras

Denomina-se stri de ação o processo pelo quai são mortos inatiriados e recensivelmente ou retinad os todos os organismos din imigrate al ou suspensão iniciaisve as formas esportidadas. Ge almente os processos empregados para esse timisão processos i suos por serem mais eficientes e com algumas exceções, menos despondoses que os quimiços.

6.2 - Temperatura

De todos os processos impregados para matar microrganismos. Esca or el sem dus ida algi mai o mais eficiente electriómico. Pode ser empregado de fues maneiras, secule ámido. O calor seculage promovendo uma orodação otenta de componentes do protop asmai bualer oximia e compara interesta a pois não tem midia capacidado de penetração. Alom disso não e todo seculdo pode ser submetido às temporaturas necessar as para esta zação por calor secultado a 180°C do rame um tempo milhimo de uma ou das librais). Emprega se para vidrama micos ou pos, nero tod imaterial metado pode sor estendidado à seco certos anstrumentos de ocad is podem perdendo to a tempera. O processo da familiação atilizado nos laboratorios de microbilidado para ester li ar alças e tios de platina consista em passar-se o aterial diretamente na chaina do bico de Builsen.

O cator limido é mo to mais e l'ence. Ago promovendo a destaturação le proteinas e dissolução de iplacias in que também contribulidara intersibilitar primeiro efetto. Tem alta capacidade de penetração e pode ser utilizado ara uma je anue va ledave de materiais. Inclusive biológicos. A temperatura le ob. C. dura de uma he al é suficiente para maiar as filomas vegeras vas de ou al as microrganismos, exceluando se os termoficos na ula mence. A 100°C es o maia vegetado as morrem em poucos minulos, se munida essa temperatur durante 15 minulos, morre também a majoria dos esporos. Há con indocesnos principa mente de saprofitas, que podem resistir ao aquecimento a

s, di trante lià las horas, suportando mesmo temperatoras, im pouco mais as. Para matar qua quer i po de microrganismo i notasive todos os tipos de esportes emprega-se vapor diagna aques do a 120°C, sobiuma pressão de uma A present of the set in appearing to \$10 per \$10 per \$20 per \$

As any mode per them congruences say may resolve to an order of que and out the might be so to the set of the anti-cast letter abute only the set of the property of the property and the set of the anti-cast letter abute of the property and the

163 - Padiações

The observed peaking peaking advise a substitution of square substitution as the assertion of the second square harmadas and largers.

As rad a, seed by printing browning as the compression of the winds of the 18 and 18 a

As radio, as on the several is a chimal threat pleasure. See the according to the set of the control of the set of the control of the set of th

materiama colula di l'ade a le lei san recessar es li quanta no caso dos
a le le apertas li quar mer e su reces o quando es tiota de facilité son zan
a Seningan lago has le outres major aix descartave sitém siu l'ester l'audos
esse processo.

.6.4 Filtração

A passagem de sein coes on gases através de 1, triis de purits si ficientechie pequer is duci rei im microrganism is pode ser empregada na reimisdo. Be lignas e langos, de sando em titanto passar a mai ima dos il i is

As le as portosas de nome ana forem metre used si il nassad le abadiente são empre e las membranas difirantes de nationella, se e aceta o de el ose para esse fim

A chração tem como principais an lações a estir. Zação de solações emessensi eis e na entrada de salas so ambigues oriza qua cuer fram garame an el indesento o Maito como me a estendo de de ar que e borba ado em preios de caliura send, basian e empregados frims de la de signi-

1 6.5 Yibrações sónicas

Some and we when detailed and a que não estrapasso. 14 to telentre 4 to high the astroquerous site supersonices e acoma de 20th is equitassonicas en tes niconegamismos son sensivers à vibrações de sa similar sensivers para o la sportise de travasamient de ele actuale de otar. Un a una explicações para o la social se forte ou reconstruça de gases dissolve o injuntos aublicatidos a telas de para ses social de solução sobra forma de improvibas o estas de acmente agitaçãos chocam de contra as paraces manifelantes compensas. Demonstrução de sonicação para la ligita de manifestado utilista permitir a abitenção de trações incopendentemente, e imitatament qui mana permitir a abitenção de trações incopendentemente, e imitatament qui mana permitir a abitenção de particulas mentes, como a lumita.

17 - Controle pela ação de agentes químicos

7 I - Considerações gerais

Consecumente los agentes qui mai a emprepados na a maranou instinar mortorgamismos são classificados em los glata es grupos. Sesintelentes e agentes quiminterápicos

Distributes has substantially our agent diretaments sobre estrutural microbianas causand a morte dismicrofigation. Não mái mine escar a monte tod o microfigation ou conquisionous com time of a national distribution of the independent process. As principalis not thirties e minercular and only in a morte and itoplasmatical sansice and contest capables de composition of a process de consideration of a morte of the discount of the mortes of a statuta of the mortes of as principals.

as taken a least forth a way had a to be to be appropriately and a second of the secon former to the other partition to be an extended that the former to the property of the second of the sector sumethic texture in scatters. The said Consideration in the present is in apages in a I depart a strain to the region of the section of the fellow terms and the section of the fellow terms and the section of the and it does not a core to the great part of the long topper two sale and a Photoses on a great and employed and the compart of nera e cel s'artarentores adas el facility and a National States A TANKA AND THE REAL PROPERTY AND ADMINISTRATION OF THE PARTY ADMINISTRATION OF THE PARTY AND ADMINISTRATION OF THE PARTY AND

Six six a paint of Shailing in rul s s r is head discusse the product of the street of t taw Y negotas - dat ar pare for procuring the contract k k h k t - q - p - a - l - l direction with the state of the experience a section in the section of the sect the contract of the contract o ciclina etc

a track 1 e de e plajes e tes apreseções the management of the party of the state of the same of the state of the state of the same of the

2 2 2 2 n I 1 1 1 1

w K b c a l l l l l , to 191 gundo (quimioterápicos)

A transfer to the first the training 4 · e 5 / . k + + + t tr tr ry to the training of the trai all to be a great to select the selection of by the state of the second of

1 1 11 11 11 Capter St Da Lu ty a the constant of the company of the company of the contract of factors in a prior to the second to the second of the seco

rentes serão afetados de torma diversa pelas condições de uso. Assum tem grande influência na atividade dos desintetantes o fator de di uição. Venticou-se ser válida a equação.

$C^{(n)} = K$

ende (é a concentração, a o tempo, e o coeficiente de dilunção e kiluma constante. Desintetamies como o tenol e derivados tom a = 1 lisso significa que send, difuido a metade lo tempo necessar o para se obter o mesmo etexto será e dobro. Ja o bicloreto de mercurso tem e = 6 bendo difuido à metade lo tempo de ação aumentará sessenta e quatro vezes. Por essu motivo, a dal, nente se prefere avaltar a atrial dade dos desintetantes com provides de acadas nos condições de ação.

Ou ros fatores influem consideravelmente na abividade dos desinfetantes temperatura plif presença de sais el principa mente presença de proteiras estranhas. Certos ligentes extremamente a vos moro perdero quase taboende sua at vistade quand em presença de moterna organico con os de rote na em vistode de sua glande atim dade por ela É o que sucede por exemplo, com os compostos de mercúrio.

7.3 Prinopais grupos

Nac há ama classificação drica aceita de ta forma que aplesentare nos os agentes quím cos em giup is que tenham em cam am as ançois quim cas (alcoms, aideid is etc.), ou elementos químicos (ha ogérios inetais residos etc.) ou necario nos delação lagorites oxidantes, agentes de supor que erc., Cobo embrar acora que lada um dos ompostos clavos aba anoge er seu emprega como esseu izante desinfalante an asoptico ou até que van eligente id in entanto serem consultados li ma especializados quanto a concentração, tempo de comprego.

Aicoois etilico, isopropi ico propilenogi coi et lenoglicol.

Aldeidos: fórmico (formol), giulárico

Fendus tenal creso, timos clarocresos comadenas

Acidos orgánicos acético, lactico, benzóico, capróico.

Haiogenios, indo cioro, ácido hipocioroso, cloran mas, hipocior te

Metais pesad is sais de mercurio prata cobre zinco

Agentes oxidantes água exigenada, permanganaro de potassio.

Agentes de super sie cloreto de benzascônio cloreto de benzetêmo cloreto de cerd-piridineo, ciorohexidură

Gases da do de et lend baildo de prop leno, Beta propie lactima dioxido de cloro, ozona

Bibliografia

NEDHARDT FC INGRAMAM . SCHAECHTER M Physiology of the bacterial rell. Singlet Access sizes, in Pub inhere, 1990

BROCK TO MADIGAN M.T. MARTINKO, J.M. PARKER J. Blology of Microorganisms. Prentice Hall, 7th edition, 1994

FALARO, K., TALARO, A Foundations in Microbiology Wm.C Brown Publishees, 993.

PRESCOTT I M ENRIPY J.P. KI.FIN D.A. Microbiology Wm.C. Brown Publishers and edition, 1993.

GERHARDT P MURRAY R.C. E. WOOD WIA KR GC NR Methods for general and molecular bacteriology. American bodies for visitobiology. 494



TÉCNICAS BÁSICAS EM MICROBIOLOGIA

M. Ligia C. Carvaihal

2.1 - Segurança no laboratório

Em microbiologia, trabalhar bem significa trabalhar com segurança

Qualiquer estudante ou profesional que u la prierorganismismo seo de relesta considere de que es à manusciondo org, nismos vi la entere prieror estar incluidos organismos patogenicos ou potencia mente, a cos in bobi profissional de le conhecer purbanco as normas de seva que a interam o missa no em un laboratório, antes mesmo do micio oguer a vicade platura instamos uga aig mas regras importantes no a un do craba ho em laboratorio antega.

If we are no recording to obtain a session control objectoe de uso to a control operation autoria subre a bancada de filido ho

* Enquanto no laboraror il vestir sempre un laven all'aboratório com un funde na alcoratório com una servicio de manor parte do corpo ávão sai rido taboratório com una servicio.

Fechar portas e janelas durante o trabal no em laborator o de nucroção para evitar contam nações originadas pelas correnves de ar

 L'imparte desirretor à bancar l'arrès à apost à se l'iso. As paredes elo do laboratorio também devem estar sempre bem l'impos.

5 Lova as nãos com sobão ou distorgento inteste depois de exercicano.
bo

 Não co near nada na poca. Nia comer beber ou fumar dentre do jobe no. To a pope air usar poperación side somacha es obtendo nos.

- Telegon resolutions grant to the partition of the compactions do bico de gás
- A Descardar of the Grandham nade on local a repractically in-If are some production as etc. do a corner or leaven a coal desingularity and in larger by term to determine the angle of our estimate a hand gem e esteruização dos mesmos.
- a leaf to the terror to account the prosecution of the force of the is provided and model to a potential and the more in a contract in territorios of articalis que estas testas months de aprimar agrans mon me resistant permanecem in the typic a second material searcher is a pressuring at there is not 1 to a sign as tessestingue side to be the transfer sizes in og tilk is produkt med signifikationer og produktioner og meridadore e dist u ana sesye kespaian a a ni goris nos se film s
- Navit discipling a other in the trabellor gray estate and leave the lar fum de ev-tar acidentes.
- the call at the court beginning runes as a sent being maken to acortida, no la mais intes. Emesmo descisió fil com la asia motios de Ref. to space descent sometimes promote the fell suppreprise again
- 12. Aprilo que consideração que tras prente a nitendo ma surgar sense que ber er gentlamente, was mit and it word sold access to the agree of the from the transfer of the front to the ment of the first
- 13. A man a call for a development repulated a care pages area contaminação do ambiente com esporos.

2.2 - Preparo de meios de cultura

Grazionios de melo de cancilo a conjunci, de nui rel tes necessários para que acore a multiplea, as ou monutinges dus injustinessesses.

emitted between our and was a programmer of the proall the interest of the state of the state of the san approxi-Contract a spara contract distribute to the nutriente me characters are prostlett to as a level of the same of the the gold selection serrendos, sem nos de le travele que ser le creare development so as as as adopteror, firm a conclusion reas a criminal list scena has menting a region naticas do próprio meso (Ver Cap 1, item 1.6.)

Cique e um inoculo? O que e inoculor? O que e uma cultura?

at the stop of the first company to the part to making Of Testical unione disassembrigo sert deterrass as code harros a le uma pequina quant qu'el que late la contenue celulas y cas

bacteria a est. Harrina como se nome de variable a minera e minera. to es era tham, muside necessario as instrumentos etil cados e propoda. is eminimical signal and indicated and describes procedure or enterly considerate each in their directions are abando an individual of the inportioning subjected coestagrippinadas de oxigenação con permara en chara que as green de incubação i la aregare o emise memor que prochergos apropados pare-(ii) I broughs a deligit on boder previous action as an items was a linguistic form. intergands on as adulth. Durante a the hagge is the allows prinagan. d. Pricronganismo dando origem a uma in men-

De acorda com o estado físico, os meios de cultura tem usas específicos o dovem ser acondicionadas de forma obroprioda.

commence of appears or his descriptions on a displayment aidos diferem nos mens liquidos per secia principio mesindos dos anano magan in possessandia exilidade a pas indege the lugar washing que guide in most also le moisses la designa agrande marce. to the first participation of the first first than the first that the first section is the first than the first ments has might gones may am control of the Age as a remittation pools of inflavors so personada. I is in sus personada or regional and inflavors of Name of sile in the region to linguish the control of the control south മാവയും പുരത്തിരുന്നു സ്വാൻ കേരം ഈ അതുക്കാനം the rest of 2 and 2 and 2 gives meaning account to a contract the contract to the manufacture of the contract to the contract region has been presented in solutions are no me asserproperties of a same out on a Chapter of deather guides misurial indictionados em abos militares, similar quas passives ou me à eno roscal de encarro la lue algogian em la lide en. Loze li gilla la



= gura 2. ur bis la libi de ensalo (bi ambalen pasi eo militarriga de los

Os melos sólidas, ao contrario dos higu dos, podem ser acondicionados em subos su frascos na pusição hon contal ou inclinada, ou em placas de Petride vidas do de plástico do spo descanave si sureul lizáveis (Fig. 2.2.). O me o liquido pode ser esterilizado dentro de um tubo do de um rasco. O mesmo não nocorre com o meio solida quando em plaça. Para se obter uma placa dominido de cultura sólida este deve ser proviamente esterálizado em frasco apropriado e a seguir quando a inda liquido itemporatora em como de 50°C, o der ramado dentro de uma placa esten izada. Ao se preparar judos ou trascos com meios de cultura do tipo sólido e inclinado estes poderão ser esterálizados dentro do tubo a ser utilizado e, apos esterálização inclinado até o seu restriamento.

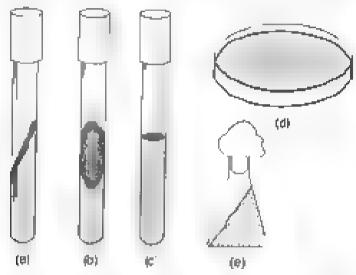


Figure 2.2 - Perode natura sólido acondicionado em la natura de ligar vivinsado i lacia ateva. Objilido de agun n sur ado i lasta fiornal: il 1,00 de agun nua per nado i di placa de legin le lederameven com agun indiniado.

Tipos de meios de cultura, basai, de enriquecimento seletivo, diferenciai sintético au químicamente definido, complexo e de transporte

Os maios de cultura des em ser al lizados de acordo com os objetivos do experimento. A composição química (qualidade e quantidade de nu hentes de um meio de cultura pode var ar em uma ordem de grandeza quase infinita. Ao qui tivarmos uma bactéria químico totrotica (ver Capo interno 1.3 por exemplo podemos recorrer a um meio de quítura contendo simplesmente uma solação de sais norgânicos tendo o CO como torde de carbono, á uma bactéria químicorganotrófica, como a El colo necessida da presença de um substato orgânico como fonde de energia e carbono. Muitos microrganismos são rapares de crescer e multiplicar em um meio de qui tura basa. (Tab. 2...). Ou tros, mais exigentes, so crescerão se, no meio basal, forem acrescentados ou ros nu rientes. Chamamos de meio de qui apar miento o neu basa, acrescido de outros ra trientes. Os meios de enriquo amento são usados quando quere

and the state of t and I want be any on the comment of the fi encorate and a contract of when a mile angle of the phase a site of given alter a series of the proportion of the series of to be the a to the term and a great and the first term of the a war make a property was maked to mining a fine of the room to stop as war a fa fire the thirty do the transfer and the a salable day also down to be a salable as a war and the state of the state and a second sec the same and the s en er me et mitte mitter (til tett t the production is a paint on organization of the first or the and Albert a light of second of they do next an eand the second s a that is a companies to the same of the same and The sign are to the same to the sign to a the first of the second process to be seen as the second of the and the first and the transfer to the first terms of the first terms o expenses a few for a particular or particular to the few for the particular to the p degree of the special degree of the both of a tenseri tarvajatiras mentete premo combidas no meio.

Agency and the second s ramer epace or a dall to retree c y programme to the second seco for the enterior of the enterior of the form and a second to the second to the second to re for any or any other party of the In all the second to be a second યુપ્તાનુક ત્યાં કે આ પા પા છે. આ ત્યાં કે કે કે કે તો કર્યો છે. was to got the true of the true plant. They are got to prove the conhecidos, são chamados de complexos

Some forther, they also rate to the proposer of where the property of the first property of the property of th and a first term of the second and the second for the second and the second for t and the party of the second of e stage to the major a least of the major at a a b p w n a a a strain matule a set as segment a second material

Tabela 2.1 Tipos de minos de numera que majertiva: composições ou micas

MEIOS DE CULTURA	COMPOSIÇÃO DODRES DO MEDIOS			
Melos basass:				
Agua de peptona	Poptima (produto solúvel resultante da hidrólise de proteínas), 10; cloreto de sódio, 5.			
Caido no riepo	Poptona - O ciereio de súdio. 5: exercio de la arre - III			
Agaz nutrieine	Catdo nutrumte soko beado com agaz. 15			
Agar Saboura ad glicose	Pentona, Ordi (rosc +Oraga) 5			
Mesos de enriquecimentos				
Аудык өлөгүүлөг	Agan nathiente acrescido de sangue desúbrinas citratado, 50 a 100mL/L de meio.			
Ça da şelende	Peptona, 5. manuo., 4. rostato dibásico de socio. 10 setenito de sódio (NaH5eO _J), 4			
Meros seletipos	'			
Again o processalescelaate	Exerción de corre el reptional Elécutrata de sódio 10 citrata férrido de amúnico, 10 deoxidolato de sódio, 5; vermelho neutro, 0,02, ágaz 15.			
Cuide Mac Conkey	Poptona 20 lactimo 10 idareto de códio 8. a troco late de soute. 5 llemnilho septro 0,03			
Mark aliferencias				
Agar Mac Conleay	Caldo Mac Conkey acrescido de Agas, 15.			
Agar amido	Amido 10º estrato de cacre 3º peptona 5, ágaz - 5			
Melo de transporte				
Aquit e ideno-	Gibrerit, 5: es cato de levedura. 2 tos ato dibaseo. de polássio, llágar. 5			

Os meios de cultura derem ser preparados e esterilizados seguindo procedimentos básicos

A maior parte dos meios de na, ura estão disponíveis comercialmente na roma de poliFara meios liquidos e polé simplesmente pesado e cisso vido em agua destitada ou deionizada. Qual do se litata de meios sondos, por exemplo agua huticiente liapos pesagem é dissolução em água, umeio deve ser aquecido avela vival unsocieção de agai. Uma vez acina icionados em frascos apropriados elestrilizados por autociavação K ipilicia 13.3 são sequentemente estrados a aproximodamente ISCC o demamados em parços previamente estendados a aproximodamente ISCC o demamados em parços previamente estendados.

ira das Calcula se aprox madamente 20 a 25 mil de meio para placas de violomos ilimetro. As placas não docum ser mex das nom removidas, a é que o moio esta o tenalmente solte a cado. Algumas récordas de semead, na exigem que a carção do meio e demantá lo na placa com temperatura em romo de 50°C ticiente para que não ocorra a solidificação antes de completa, a comodo e não pormanecerem gotas na superficie do meio estas poderán ser elimina mantendo-as el m a tompa, ageiramente aberta denor de uma estafa a 3°°C em uma camara de fluxo laminar. A guns meios contendo nutrientes termo-a el siño podem ser escerti zados por autoriavação e la liga se para tanto o sistema de últiação. Pig. 2-3).

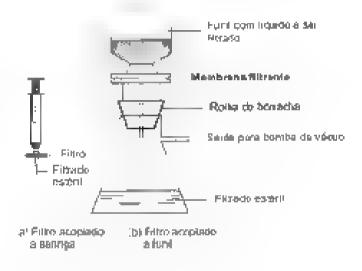


Figure 2.3 Setema in este idiação por listacita.

2.3 - Técnicas de assepsia

As técnicas de assepsia impedem a contaminação de instrumentos e meios de cultura antes e durante a seu monuscia.

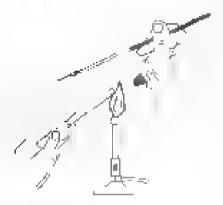
As term as de assepsia envolvem os procedimentos responsaveis pela iem ização de his rumentos a serem utilizados, por exemplo, quando sub neremos a alca e filo de inicia ação a que ma peto calor da chama do oico de insen — Fig. 2 fale 2 fili e os procedimentos responsáveis pela manutenção condição de ester lidado — a sejo pelo imped mento do contato dos materais com objetos ou si perficies naciones como os ded is la superficie da ancada leto. Dessa forma frascis este il zactos, vazios ou não devem sei mantidas sempre fectuados, son concernos pour menor tempo necessario para sua adi ização. Para evita la concernos pour menor tempo necessario para sua adi ização. Para evita la concernos pour menor tempo necessario para sua adi ização. Para evita la concernos pour menor tempo necessario para sua adi ização. Para evita la concernos pour menor tempo necessario para sua adi ização. Para evita la concernos pour menor tempo necessario para sua adi ização.



al Flambar e alça até o rubro.



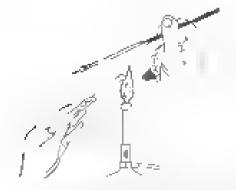
(b) Encostar revemento a aça na colônia isotada. Tampar a placa em seguida.



(c. Tiran com nidado minimo la sampa do litudo. Plamba la boca do tubo.



(d) Inticular a amostra com movimentos de ziguezague sobre a superfice do ogar molinado



(e) Flambar a boca do tubo entes de lechar



 Flambai a eiça ou o fio imedialamente após o uso

Figure 1.4 Figure of assessed districts spain notice and deministration of Tournest assessed districts of approximately approx

ho de e ser rapidamente passue i na chama de bien di Bunson mediata na anós a sua abertitra cantes la ser techado. El gold di el 2 ser Essa prunto de frasco contaminando e men ou a cultura. Esse procedimento mos forma em (Cap I item a 5.2) e dive ser utilizad i durante a retira de amostras i noculações ou semead iras em meios estere sicontidos todos inditascos demonarados acuala accessidade do adorar um sistema no para que a ampanha figura exposta a inflaminação por exemplo divia deixam is emadamente sobre a bancado. Fora tinto, a onse ha se do dedo minimo para segurar a ampa di tubo digrante jodo o empo manuseio (Fig. 2.4c, die e).

Para evitar a contaminação de um meio de cultura sólido i contido em placa, existem técnicos de assepsia apropriada:

a a lange a tampa da placa de vel ser mant da sobre a bancada e im a dipara e multi mais proxima ples vel da chama de bico de Binser não a placa contendo o meiro de cultura e segura lom a mais esquerda per per o da chama. Fig. 2.45. Como alterna sa pode ser unitrado o a unital o desenta na la 2.8 mosta a mais abelia se ma sepa ação litar cose da placa.

2.4 - Intrumentos do microbiologista

Para inocular ou repicar as microsgonismos recorremos a instrumentos especiais

As technicas que envintem ni ransferencia de maioroganismos de um lopara o tro al iziro os segumos inscrumentos. Fig. 2.5) aça i hi equina a na ou de migari, maior e parais instrumentos encontrados atua mente na forma recicias en un ha norma este nivadoa e a el contigia aside. Il nes prendimento ados (no los caralla acidos pressivira). Educis conços acidades ta fabilis il pode ti se al maidos desde dos adamente este filmo se noca como ou acitoclas. A aiga e a la de em a or trados modiatam nos antes e aprilio seu uso. Pero los las partes nas elem permanece na hama do biro se Benson atelatingo e robro sida e 2 do Antes filmon nos com a cilitar a tim de impodir a desmitos militar morgan mos a alça ou el transporto ser estri dos ceras noca e se perfecie antela de fluxo de antigar en nos ambiente desde ase lhando em câmara de fluxo de antigar en nos ambiente desde ase lhando em câmara de fluxo de antigar en nos ambientes desde ase lhando em câmara de fluxo de antigar en nos ambientes desde ase lhando em câmara de fluxo de antigar.

⁴ mich. A fibridagera ner ums en considerante en pierdos ech mais tras unitarios de la fibrida de la considera de la fibrida de la considera de la fibrida d



Figure 2.5 in the Norw Education and Advanced Application of the Post of the Indian Application of the Post of t

2.5 - Metodos de inoculação

Procedimentos para inoculação com injuidos contendo microiganismos.

Otando ma alça esteril é mergu hada em uma suspensão contendo me crorganism is ela segul rire rada do meio inorma-se no alça ima película a quida circular contendo um determinado número de microrganismos. Essibilidada" é chamada de móculo, o tamanha deste nóculo vas depender de drissi tatores perteitamente controlaveis concentração do células na suspensão (contem 2.8) e diametro da alça inormalmento comportam volumes que variam de tituo a cilia de diametro da alça inormalmento comportam volumes que variam de tituo a cilia de platina também podo ser um instrumento pala inocular suspensões, ama vez que um pequeno valume de aquido fica adendo ao meio. A pipeta Pasteur e a pipeta serologica podem ser usadas nata nuclular volumes variavo si carforme a situ ca ibragem desde que reoptacias a estemas pipetadores ou peras de borracha que garantam a segurança in tra-

2.5.1 Inóci los liquidos em meios liquidos

A par ir de uma suspensão contendo microrganismos, podemos indear meios liquidos, mergulhando nestes uma laiçada contendo os microrgamos Da mesma torma lesse tipo de modulação pode ser feito com pipetas en ligidas ou do apo l'asteur simplesmente gotelando o inóculo entamen no tação iquido a ser inoculado limed atamente após a modulação (figue). Las alças e os fins devem ser novamente flambados até o rubro, para umo na contaminação do individuo ou do ambiente de traba ho com qua finalidade las pipetas devem ser intediatamente intersas em solução solução defeatate.

2.5.2 - inóculos solidos em meios líquidos

A alça do fio de platina podem sei usados para re ll ar pequenus quan ades de material so ide por exemplo, microrgan antos proven entes de sa colónia em meso de ou tora sel de (Fig. 2 lb... Para tonto basta cocar a a ou o fio ni material a quantidade de material qui o numero de microrga mos iretidos na supertio e da aiça o a do fio não e mens ravea e consemiemente este metodo de inoculação so podera ser asado quando este arametro não or importante. A aiça ou o fio contendo os microrganismos e mergolhadas na meio aqui do e lentamente aguadas para a abbitação do sido.

2.0.3 Liquidos ou sálidos em meios sálidos

Meios sóridos padem ser inocuíados de muitas moneras, dependendo do objetivo específico. Listamos a seguir algumas tecnicas mais comuns e seus respectivos abjetivos.

Semeadura hara nixieni ão de notonas isoladar ou semear luz em estrás.

Essa técnica e isada quando o inóculo (i quido au solido contêm di prices microrganismos ou muitos nucrorganismos de uma mesma especie dese amos obter coión as bem separados. Nessa técnica o inoculo é priceses amonte espathado de forma a promiver a separação das ceru as na pertir e do meio sólido. A hig. 26 mostra lesquematicamente la sequente procedimentos a serem seguidos para a obtenção de colimias esquentes a poro mostra a Fig. 26 dura la asenteacuma em estrest ado a a ça deve se initia a na posição de neta la firmida esvita irasuras no ágo. Entre lada esta A. B. du C. a alça dove ser flamba la para entre na minimisção cameta la firmida para entre os minimisção solução calcular aplica includação por tempo determinado lo esta o onde as cálulas. Legram sua sauficientemento separadas umas dos ou supresentará do ônias isoladas quada miónia isolada corresponde a uma para pura.

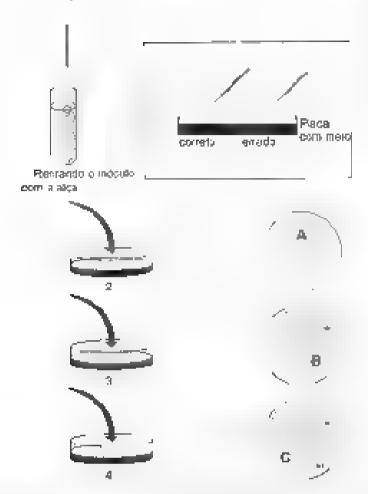


Figure 2.6 in the series and these is what is series, so do both an opposite Adip in do the computation is a great with the military and the assentage at Communical military of one of do incommunical listential in the day of one of the military of the assentage of the assentage of the control of the contr

2.5.3.2 Someadura em prolundidade e superficie.

Esse metodo é usado quando queremos crescer microrganismos simultancamente em condições de sem lanaembiose e em aerobiose. Para issocuas mos o meto sóndo incurado em tubo. Eg. 2.2.) Esperamos e fio de pla esa contendo o móquie na base do mere de cuatada sé ido, ret anaeme em segunda a passacia o tenamente em zigue-zagae pela super icie de mesmo mere. Eg. 2.4cg. Dessa forma i módula fica distribuida na pase concação de anaembiose) e na superficir do meio, condição de aerobiose.

2.5.3.3 — Semeadura com espalhamento em superfice.

Também chamada de semeadura para contagem de cotón os, esta termida consiste no espaihamento de um mix ato contido em um pequeño volume norma, mente entre 0,05 e 0 - mili sobre a superficie de um meio de cultura so-

do em piaca. Para garantir o espa hamento de colonias iso adas para a contaem o mócido deve ser previamente di uido e espalhado com ama a ca de rigatski (bastão de vidro em forma de Li com movimentos leves e non ogéeos (Fig. 2.7.)

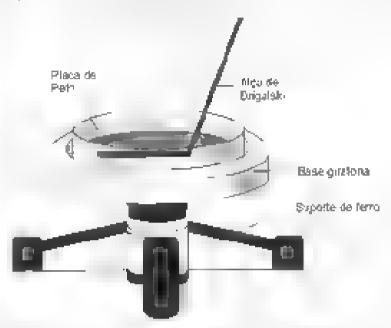


Figure 2.7. Se seedur lon inicial amendum injuri filipe li equice ul abbili quanti inni no local un agai abbili in en un lagar a li eleva grafa see de i noch mir seeduce une esta amendo mul holio elevaniforme do inferdio.

2.5.3.4 - Semeadura em camada

Essa técnica tem como obienvo a obtenção de um crescimento abundanem toda a superficie do meio de cultura sirido contido em placa, enfermevor
coutro frasco. Para tanhi pode ser utilizado um modulo iguido ou sóndo
amendo um numero grande de ce usas. A semeadura pode sor testa por der
amento de determinado vicumo o posteñor espa hamento. Para o espaamento podem ser usados diferentes instrumentos, como "swab" i pedaço
amento podem ser usados diferentes instrumentos, como "swab" i pedaço
amento de algodão preso na ponta de um palito de madeira eu de meta a de Origalski, a ça de placina su mesmo por combinação dis instrumentos
emplo primeira stoculação om o "swab" contendo o inoculo e espa hacento subseqüente com alça de piatina).

z.5.1 5 - Semeadura por demamemento

Com o mesmo objetavo da feculca descrita no item 2,5,3,2 esta tecnita da asada para obtenção de crescimento em condições de acrobiose istem cia do meio le anaerobiose profundidade do meio los meio de libera so do contido em plaça de Petro Para anto o casoca do sembado em

meso soudo estéril undido em tubo (aproximadamente 20m) — temperatura em tur i de 40°C) un edia amente após a adação de modulo o mejo é demanado em pla a ja ester i zada laté cobrir homogeneamente jodo o fundo da nesona. A, os esfinamento la placa é incubada por tempo e tero peratura adequados. O crese mento das colómas pinde ser observado em toda a pro landidade do mejo conforme as garacterísticas aeróbias e anagrobias do microrgan amo semendo (Fig. 2.8).

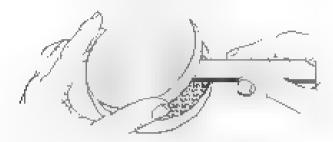


Figure 2.8 Tieln is **to** Pow Piete Prigora ecoplada do Inm. As abology Allaboration are use 1995. President Capputano Sherman in the Belliams Community Elb. Tomp. Enc

2.6 - Culturas puras

A partir de uma mistura de organismos podemos preparar culturas puras, desde que utritzemos técnicos adequados.

Para obtermos culturas puras de uma determinada espécie ou unha gem a partir de uma mistura de reganismos temos que asar procedimentos que envolvem iécnicas de escarato o O exemplo a segura descreve e lustra a situação presente pelo solamento de Filou la partir de uma amostra de águide espeto inorma mente o esgoto possor unta variedade de microrganismos entéricos e não entéricos).

In malmente uma a jada da agua de esgoto é semenda em estr as na signature de luma placa contendo agar víac Conkey ver Fig. 26 liteme 25.3.1. A segour a placa é incobada por 18.24 boras a 37°C. As placas de em ser incubadas na torma invertida para que as golas de água geranas durante a incubação não pinquem sobre o meio de cultural prejudicando o isolamento. Durante a incubação us ce ulas que estão separadas o que intermisolamento. Durante a incubação us ce ulas que estão separadas o que intermisolamento. Durante a incubação us ce ulas que estão separadas o que intermisolamento. Durante a incubação us ce ulas que estão separadas o que intermisolamento de crescer nesse meio de cultura originarão colônias und vidua a Apus 24 boras em ágar Mac Coakey celulas de cicol dão origem a colonias red indas, vermeihas com aproximadamente 2-3mm de diâmetro todas a tiem todas as colônias com esta aparência serão obrigatoriamente de é coa tiem todas as colônias com esta aparência serão obrigatoriamente de é coa tiem do Como é los obastas o consum nesse tipo de maiorial é provavel que a gamas des as colonias pertençam a bactérias do genero los Antes de Antes de

in a communicação de resona e distante que coda de especialma en medica por la regoria medica se sempre a pos A THE WATER WAS COME AND DESCRIPTION stade te cara di cemina a lologia mo ma bem separada pode conter to trac experienced promise istropers at estimate so di rante a so-mea make and as elicinate especial deterentes permanecer in mit. 17 na street. A na Para respect cost problema cata o lea e a trada greenings ashout it is remar ign area timerticates exid issge that de uma coloure por ou de mais in its did stir its pera none mercestar. Para solver war may not have exercised ma saas periodo de o na de ormaa abbita a es li com spain. como na de organ anos. Esse pelpien anoca lie in ao semiado nivolcontaminate a manager Marit, and Algebras bacterias in name the mark the many newsperses to the restrict to the section of the con into do , the rimeric consolings in parasitive more c is suplified the contract of the form of the form place is supported to the institute of the control of acquired or in the first enda repreone take the experted of entrangent of views players in manager to Las Cina relation de a ser aci. Catro repique poderdo cer feitos the some a men a in probabilidade de comos de libitado portas initiara pera de leta então ser extremada pel se plia idimentos inhi tic para a identificação dos microrganismos.

Mesos de cultura e condições de incubação para anacróbico

Para que acorra a multiplica, de des microrganismes chaerabias os meios ineculados devem se incubações em condições apropriadas.

2.7 l — Incubação anaeróbia em jarras

More than the property of the empty of the empty of the empty of the end of the empty of the emp

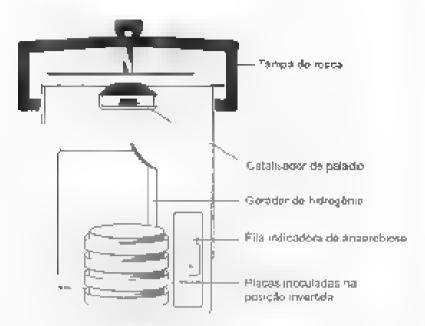


Figura 29 Jama para o cutivo de mecrorganismos anamébros

2.7.2 Meios de cultura para anaeróbics

A guns microrgan smos anaeróbios podem crescer em melos de cultura aprophiados, como elo caso do meio de Robertson (carne de cotação picada tang. Li puptuna 10g. c.) ctoreto de sodio (5g. Li el am agente redutor por exempla, cistema un flog ico ato), o meio é ester vizado por autociavação el mantido em frascos com tampa de rosca.

4.7.3 Tāmaras para o trabalho com anacróbios

A utilização de camaras para o traba ho com microrgamismos anaerobios permite que amostras de autiliaras sejam retiradas em condições controladas de ausencia de ox genio remperaruta, amidade e COz. A prao pulação das amostras ocientemen de câmara é le ta com o auxilio de luvas i xadas no parnet fronta.

2.8 - Métodos utilizados para quantificar os microrganismos

Existem vários metodos a serem utilizados quando queremos saber o número de microrganismos em umo cultura ou suspensão.

28 – Técnicas de difuição.

Contrato de objeto gamemos em anta por anação pode variar centro de ama ampia estala. Como consequência intinas vezes fornamen impossíve, a quan interção de oma população de nucrorganismos, tento por contagem direen camaras, como por semeadara em meir de cultura sono, unetodos desos posteriormente. Para reduzir o número de microrganimos em uma noma asamos as técnicas de dunição Estas consistem em pripetar uma frada amestra em tubo contendo outros quido (dinuente) gera mente agua ada ester do solvição sa ma isotômica (NaC 85g/ esterioradas O lo do lator de dilingão e feito dos dindinos me micra da amostra pelome tira la apos mistura da mesma com o di uente.

Assim.

Fabre de di la ção Volume (oia) (amostra + diluente)

Exemple: 1.0 ml de uma cultura de bacter as é pipetado em 9.0 ml de un sa mai NaC - 8.5g. Li. O tator de diluição nesse caso pode ser identido por 10 - 10 ou 10 Se 1.0 ml da diluição 10 tor pipetado em outro contendo 9.0 ml de solução sai na lo novio tatur de ciluição a partir da nistra outra a sera 1.100 ou 1.10 nu 10 - Fig. 2.10a).

2.8.2 Contagem do numero total de células (vivas e monas

O námero total de cé u as é usualmente determinado por chetagem em naras, aubitadas observadas com munoscopio ou por l'indiadores' (Coul-rounter l'inde os organismos são contados e etronicamente. As contagens curiaras são pienos previsas, porém mais simples e mais buratas que as l'agens eletrónicas. Ou ros metodos, como a contagens em estregaços coraisse urbia metha também podem ser ul lizados pará a libitinga i do número de microrganismos. Ressa tamos que os prétodos de con agem do número de microrganismos. Ressa tamos que os prétodos de con agem do número de celulas en nivernia, on agem de celulas vivias e minitas. Em amos aquidas, essas comagents são expressas em número de celulas intidados estas comagents são expressas em número de celulas intidados.

2.8.2.1 Câmaras de contagem

Pora a contagem em camaras les erganismos pateigénions nu mériels de la selipressament e no los pelo calor da primaçã i de unha se ução contendiovalina socieção comendo filame i 0.5 a en la maior di

Lima das tontes de erro desse i po de contagem esta relacionada com a ao una microrganismos à pipeta de vidro ou de plás, co ou à sua agiciticad en higologa acados. Essas a focuidades pode o ser lescividas a superior conganismos el hologar sa ma cimpo ado lom No. IPO la pl. 75. Para or a contom paçan do suspensão por outros microrganismos não deseido el cinha se normalina. Recomenda se a lavagem da câmara imediata no esta apos o iso para existir a secesgom do materia, no vidro e poster or enterência com novas con agens. A Fig. 2-10 apresen a um esquenta de na câmara de contagem típica.

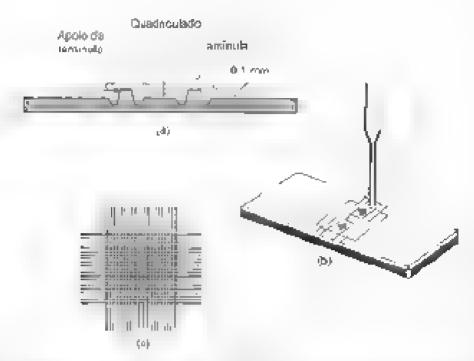


Figure 2.10 In the intermediate in the program of the second contract of the second contrac

A ub ização de ama lámara com os padrões apresentados na Fig. 2. 0. deve ser reita conforme os proced mentos, uma pipeta. Pasteur contendo um pequeno voli me da suspensão de mis rorganismos, coluna de liquido comnão mais que 10 mm) é colecada como indicado na Fig. 2 10b. A ponta da pr peta deve se apotar na plata onna centrar e iz lado da pipeta encustar na lamir. ന്യര പുന്ന a pipeta nessa posição o liquido e a Jiomalicamenta conduzio, por çapilandade para dentro do espaço coberto pela laminula e parte do espaço da pla aroma, el importanto que o ligado não extravaso. Algumas vezes e nedessarvo barer reveniente na ponta da pripeta para que o liquido começe a sair-Após 30 m ni tos de repouso la contagem pode ser tetia em interescopio. D calculo de nome te total de par edias pode ser obrido em celulas, un dade de vidume. Um exemplo prático inclui poqueno quadrado do quadriculado mede-1740f and Como a distar da entre a grade da como da é 1. Tá mm e volume. do Equido em India quad ado poqueno e 1/4,000 pinis isto il supporhamos, por exemplo, que após comagon de 400 juadrados pera terios maim contadas 500 celuias, isio dana uma media de 500:400 = 1.25 celules quadrado pequeno, ou seja. 1,25 célulos por 174 XIO.000 mai. A acciente comturba então 1.25 x 4.000 000 celelas in Liou seja 5x17 celulos ml. A medidi narias contagens represento i resultado. Se a amostra, por estar muito, un en lada for diluida antes de ser examinada lo lator de diluição deve ser con iderado no resultado final. Assimi se foi leita a diluição de 1-10, a contagem eve ser multiplicada por 10

2.8.1.2 Contagem on Coulter counter

O Coulter — counter é composto por doas chmaras — en sistema de deorção de particulas e um analysagor (Fig. 2.11. Pale serem contadas as partias ou celo as no casor devem ser suspensas em um flu do condition que ressa de uma camara para outra através de uma abechira minuscula por onde ressa também uma corrente elétrica. Cada vez que uma baciona los qualquer rutra particula passa pelo orir cio, instantaneamente muca a resistencia do stema. Essa mudança e detectada e medida por eletrodos contidos nas duas amaras. A grandeza da alteração da tensão eletrica e proporçional ao volume o particula. Esse instrumento permete con ar rapidamente um grande número de par incluas dimensionem o de contagent.

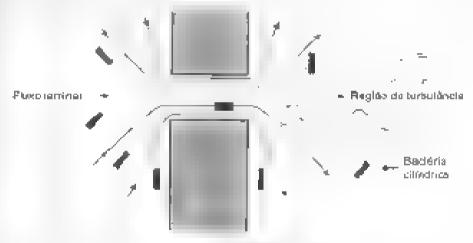


Figure 2.1 indexes the restrict Passagement of the supersistence in contract in prorganismos differences in even de central de centr

2 8.1.3 Contagem em esfregaços corados

Neste metodo, ima gi ta de suspensan de volume conhecido il si almente 0.01 milit è espalhada sobre ama iros de teniz pa superticire de ima lámina de vidro. A segir na goto e secal a fixada e e vado. A con agem é te ta
ao microscopio. Dinúmero total de organismos em 0.0 milie o numero de organism e em cada, ampo observado, di adido pela area do campo em ima
a omo e esperado, os organismos não se distribuera homograneamente na gota
permanecendo mais concenirados no liviro do que nas hordas. Por esta raão, a contagem deve ser feita em toda i area da gota para il obtenção de um
alorimedio.

z.B. 🧸 Método da furbis mema, quer paração insual com lubos de torvação padras.

O número total de microrganismos em uma amostra pode ser estimado por turbid metria. Nesse metodo la trivação de uma suspensão de microrganismos é compurada, om tubos contendo concentrações arescentes de surfati de bário (Tab. 2.2.— Escala de Mac Parlanda, a turvação dos cubos varia de transparence (tubo. 1, a transcueido, o turvo ating, ndo o opaco (inbo 10). Para um determinado encerorganismo, perachecte baccerias ou leveduras), a turvação apresentada em um labo corresponde à turvação de uma suspensão com um númer y conhecido de célillas. A amostra deve ser observada em tubos de dimensoes aguais ao tubo contendo a suspensão padrão. A turvação da amostra é comparada visua niente com a de um determinado fudo da seme padrão e o çá quio da concentração de células na amostra e feito a partir de uma cabella que acompanha o conjunto de cubos padrões.

Tabela 2.2 Propança: di mezar de 1a liura (Tibela de), zon elada pada volario (4. oro 100 m. do). Pour non o de lappiono Sherman Allec III el de diengino i promisso de la complinició de

$r_{ij} r_{ij}$	Cloreto de barro algin Impli	1	$^{10}\mathrm{e}^{-0.05}$ weighten $^{10}\mathrm{e}^{-0.05}$		Valur aproximado da consentração de buetérios (milhões, ml.)
Ł	O,1	L	9,3	ĺ	300
2	0,2	I	9,8	į	600
3	>		9.7		900
4	0.4	ı	9.6	h	.200
5	0.5	J	9,5		1500
6	0,6		9,4	_	1800
7	0,7		9,3		2100
Ĥ	0.8		9		7460
4	0.9		У		27\lk
10	1 2.0		9,0		30491

2.8.1. Coolagem do numero de microrganismos, vivos.

A contagem de viários mede a concentração de células vivas. Todavia in seu eignificado esta condicionado ao conceito do que e vivo em microbiologia. A defanição mais ace la para o trabalho com microganismos é a de manufacio como o poder de firmatico number acesso produces de termos de conceito de la conceito de defanica.

per eller all a laberta que siste de la de certair entre is named a lead of the action of the site of the state of the 1000 1 1 off of a feeth a not the advanced and and his half of the parties of a progression is a really strain sout a series of a particulation temperature los de coltura

Apply that we had so present our property by online or present of A A de let a differ by a principality by a period of a contract of a con the temperature to the second section while section that he was the and which of him has appropriate to the five here and find as the sent of a notification of the second the same of groups of the land of the lands. the contract of the second section of the second I to be at above and a All the Page 1 (UFC)

O numero de vaveis Lode sei e firmado abos o conjugero de joir nias em mejo sobido ou pela medida da turração do meio liquido.

de cultura

so ment to a larger of interesting by a record was an at his worker that part ur sector har a particular order a saction show has been The date of the state of the st and the state of t to refer to the first to be an accommodate to the and the state of t a to problem to the state of th A CAP PER MARKET MARK TO THE TANK THE THE the state of the s a produce of the first of the same trade is a the property and the property of the and the second to the beginning to the second to or and the same was promised and sh a tract rate process d rank g ? Appearance for passes a source les the term of the second there is a manager of the property that he A to a to me to a set dance a part of to the April of the second of good discussion to a second of the second to eadas com difuições crescentes

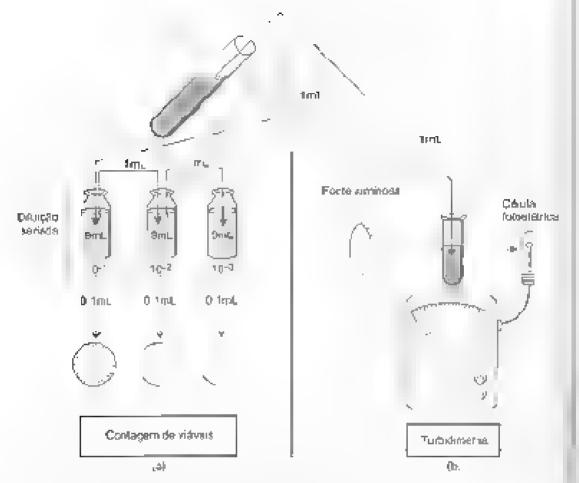


Figure 2.12 Materials whose partials and white the materials armost in open to $w = e^{-R}$ for the term e^{-R} and indeed, deeper also be in repullifications.

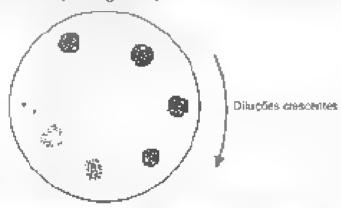
2.8 ¿ 2 Contagem de colonia: apósido lamamento do leio inculcado em pura. Método do "Pour Plate"

Nesie métudo e móculo liquido e misturado com o agar landido 45°C) contido em um tubo ou frasco que então é derramado no interior da parte basa de los proto de Petri esteril liver item 25.3.5. Eig 2.8). Apos so idificação do meio e incubação da piaza por reimpo adequado, as co hitos crescerão sobre e dentro do agar tornando possivo a contagero do numero total de colômias viaveis como no metodo anterior.

2 8 2 — Costagornide Iolonias apos inoculação comigotas Mérodo Miles e Misra.

Nesse método a est mativa do número de cóltuas vivas é obtida a partir da camagem de colo las enginadas pelas rélates, un idas nas gotas, inicia mente a amestra é dificida e uma gota de volume conhecido, pres eniente de cada difuição, é propeta la em ineat predeterminado no superficie seca do meio de cultura se ido. As piacas são mantidas em repouso ate secagem das gotas e a seguir i invertidas e accabadas em temperada a adequada aie o cresu men-

to visivel das colonias. As gotas que contêm um número grande de células presentarao crescimento, porémi pe a proximidade das células, estas não original colonias suficiencimente se adas impedindo assim a sua contagum citalquer gota contendo nienos de 15 cé alias vivas dara origem a um número le colonias contáveis. Nesse metodo o tempo de incibação é critico, ima vez sue as colônias podem se fundor rapidamente inviabilizando a contagem, mai derando, crimi nos demais metodos, que cada célula uniginou uma quio sia a contagem do número total de viáveis na amostra pode ser io ta considerando. Nimero de colonias a Volume da gota 3 hator de di uição. A la sina pipo a podo ser asada para todas abididades desde que o micio se a partir da maior difuição (Fig. 2.13.).



Egura 2-3 — Mélodo di gratico. Milevie 1 — As gourricoverre de le ultiliber menorer aprosentamentos la porés la autopresentam oboste kolleur nomo in apresenta as las gobs provenente de lingue inscrés.

28.24 Corragem de colónias após titração

Esse metodo é utilizado para amostras com uma ha xa concentração de nicrorgan smos. Por exemplo a agua de um rio limpo. Apos passagem do do rerminado co ume (100m) por membranas filitrantes (20g. 2 com poros de 12m) de diametro, os filitos com os atterorganismos retidos são colocados na opería e de meios de cultura sóndos apropriados e noi bados em tempera um adequada. Duramez a inclusação los au pentes con los hilítecio de cultura diffundem através da memorana e sobre ela formam se colon as a partir aus retidas no filitro. A con agem do número de lécases, vas e teita a partir das colonias crescidas no filitro. A con agem do número de lécases, vas e teita a partir das colonias crescidas no membrana e a volume da imostra tilitrada.

2.8.2.5 Determiliação fa numero de vieves apos noculadad em misio iguido. Método do Numero Mais Prováves (N.M.P.

Nesse método la lluttura qui suspensão inntendo os microrganismos é dialcananas viczes, como nos metodos de semendara em meio de cultura solido, a segulat chocolaiste em uma serio de 3.5 ou la tubos am violame con incido de acadillução. Apos a incubação, anota se u número de lados que apresen am univação lorese o emo) co não para lada in aição incidada els meios mocolalas a partir de suspensões concentradas devem apresentar lutinação em codos is tables. Os meios inocuados a portir fa dilações maiores naciapresentaras com principal que os meios que permanecem ciams sem crescimento visivel a o ho nut mesmo apos incubação lestã a sentos de qualquer organismo vivo. Os tubos contends meios inoculados com dilações intermediar as apresentairão turvação em apenas aix institubos e em outros não. A proporção de lubos turvos em cada dataição inoculada está relacionada com o número de inganismos vivos ria suspensa, não di luida e e con aderado o Número Mais Provave. (N.M.P.) de organismos. Diagoulo cipitodo a partir dos resultados obtidos na pratica recorrendo-se a tabelas adequados.

2,8,2,6. Lonto minação do númicio de la incluipos, loculação em nelo de latural. Lávido Matodo do Nijima. Mais Provavai Attentai lo Nijim P.A.

Esse ovelodo é uma adaptaça, do método ante for usado para es man o NMP de microrg, membre em mos e qui do Nesse mundo o ograno o os tubos contendo meto aquado são substituidos por espacos predeterminacios nais aportido de um memo de cuit a asolido. A partir de d.l. ações da si sponsão original gotas do enu meior recordo gera mente de 5 a. fl. a. são pipotadas nos espaços del mitados nais perfora do maio, conformi modele mestra, uma Fig. 2, 4.

Apos secrigent das ginas lo mero clinicabado em condições adequadas não o aparecimento de ceros as visive si Nesse metod. La furente do metodo as gotas las clavor às não se contacas mas liquide considerado e o nomem de espaços mociliados a partir de cada di unção que apresente quarquer lipo de creso mento. A partir dos resistados esculhe-se 3 di unções para o calculo do numero mais proviave) de si croopganismos vilvos na amostra. Cilino mo metodo antomos (Picas alto elobrido a partir dos resultados experimentars recorrendo-se a tabelas adequadas.

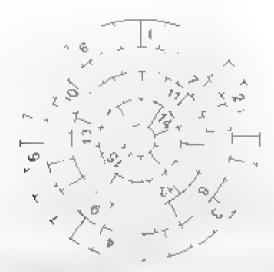


Figure 2.14 services on M. Presidente of MIR of dame that a considerate of which into the composition is as a serior months of a service of constant of the composition of the compositi

Instruction to prove some a transfer of advances decided as a second of the second of

183 Marshall are a result of the

z.8.3. - Determinação da massa de material celular

the color of surrect amount propodents, in it indespenses milled fedty a vest mark policy on a factor as a comp e feat a tre la la sal pre sale de inforas la fades en la feta sa to be not as a disand a grant to the state of the state of the field as a los is not contained to make the major of the property of the contained to t and the same and the same belong the same and the same an the start to make however a secondary advance proper or decorate to the proper opening make the language with pales 474 24 4 2 7 7 8 6 4 4 6 4 so del Nese colo pero di reconocere di control per set were the analysis of the terminal he solde to expend a part to be the test there is a set of the transper ideas. sinds a material terraposity has the and the second s report to the service to the service of the service to the service as so state of a deal of the set of the set which would was being a significant to asset all on the state of a state of the properties this to the bound of the section and the section of the section of

2.8 3.2 - Turbidimetria com espectrolotômetro

As properties a company of the properties of the

The second of the property of the second of

straight a training part of the range of the material companies as a rate of the first

Dosagem de componentes celulares

A single of the property of the second property of being the and the property of quelle men a la compara de la y a red organism of the following Value of the state dean in a second the conservation of the second finite A DESCRIPTION OF THE PERSON OF gala algorithms as alterated 1 44 1 51 4 181 14 4 14 and a restrict the state of the same of th same e et speciale de estape l'indig Ten a tipe o miss has been been sort a marketse the bit

On he is a series of the property of the contract of 77 Y 1 24 1 1 1 4 4 4 31 31 and the state of t the second of th the restaurable was negligible age was the subabout the state of the state of the state of factor as to sufe suppose how a series of I a g t a a b a sa p a a b a t b a t b a t b 1 1 15 4 1 7 8 40 1 Ag A H H G G G G G G 9" and the second of the second o and the state of t NA BER NAME OF THE BER

so the period to be a so a set of a mental bed when he are the best per best re the silver of the property for the silver of A coult at a source of the go by a war a galax di in a da ha bi in a se se y the parametry has all as a light pro-I de region programme to the company of the company Both I am in the appropriate the separate of the

2.9 Coloração de microrganismos

291 Proparação de esfregaços e fixação pelo casor

Para que uma amostra seja corada geralmente as célifas são previa renie mortas e fixadas. Os os regaços devem ser feitos sobre uma lám na elvidro. Conforme esquema na Fig. 2.15, descrou oremos a sequência dos oced mentins a serem executados na preparação de um estregaço la Colicar sobre uma lám na de vidro Impalo seca uma gota de agual (b. Emujel nar na gota los microrganismos aderidos na alça provenientes de cultura minera so ido. Se o inócia o for lima suspensão, não há nacesa dode de colicar previamente a gota de águal (c) e do Espa har o nocialo na gota, de paneira a formar ima per cula fina sobre a lám na. (e) Deixar secar em tensera uma ambiente. Não secar diretamente na chama pora não modificar a morto ogia dos microrganismos. (f) Fixar o material, passando rap damente a âmina finaces sobre a chama do bico de Bunsen. De xar estivar aotes da libração.

Esse é cimétodo mais simples para a preparação e fixação do estregaço. Após de mação, e e poderá ser examinado em microscópio optico.

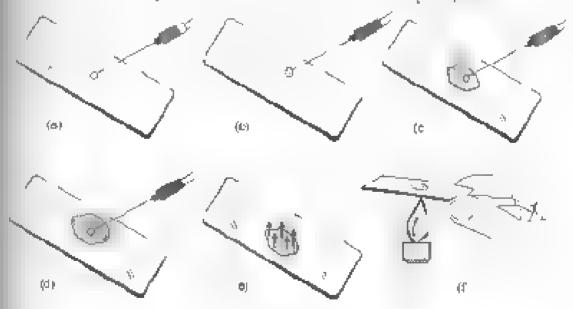


Figura 3.15 Preparação de um esfregaço e sua fixação pelo cutor

2.9 2 Coloração de Gram

Essa coloração é u aizada para separar as bacterias em dois grandes rupos, bacter as gram-pos tivas e bacterias gram-negativas. As ecapas da roração de gram encontram-su descritas na legenda da Fig. 2..6

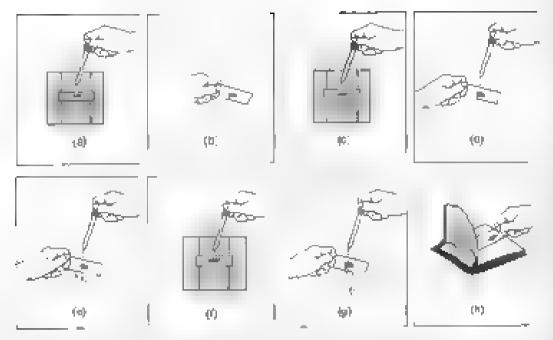


Figure 2.16 cupes discolorazio de gramilia indese un estregazi trade demanta o controle violata ne grando de con la controle violata de grando de partico de la controle violata de grando de partico de la controle violata del la controle violata del controle violata de la controle violata de la controle violata de la controle violata del la controle violata

Referências bibliográficas

Approxity C.C. FT MEYNE in Theory and Practice in Experimental Bacteriology 2 od Inglatorra Combining University Press 1970.

2 TAR ALHAL Mana. DEN TRA M.S. ET ALTERTH, M. F. An economical and rige saying alternature to be most probable invarient method to the counterance of microoringarisms. , Microbiol. Meth., vol.14, p.165 = 170, 1991.

2. A^{pt} OR The stimute in managers in bacteria by tent for it is considered. **Appl. Bacteriol.**, vol.25, p.54 - 61 1962

14, NORRIS, LR. ET RIBBONS D.W. (eds.) Methods in Microbiology, vol.1. Academic Press, London. 1969

THE BOY WOOD IN KRIEGO, N.R. ET PHILL PRINT BRAY RAID CONDITION RIN NESSERVED A MERCANDO FOR THE BOY WOOD IN KRIEGO, N.R. ET PHILL PRINT B. Manage of Methods for General Basic Corporagy American Society for Mainthin org. Mastingston, 483

Leitura complementar

OWRY OIL ROSEBECUCH NI FAN AI ET RAN 24 . R. Protein measurement with day holds shoot reagent. Biol. Chem. vol. 93 p.265, 952

STUKUS. P.S. Investigating Microbiology - A Laboratory Monuse for General Microbiology Sounders College Publishing, ELA, 1997

MILES, A.A. ET MISRA, S.S. The estimation of the bacterecidal power of the blood? J. Byg, Camb., vol 38, p. 732 - 742, 1938.

HUBEN H. PT SCMASELARAN P. Comparison of the poor spicae and drop plate methods continuously at Recoding op. Appl. Environ. Microbios. Victoria. p. 1246—1247—462



ELEMENTOS DE GENÉTICA DE MICRORGANISMOS

João Lucio de Azevedo

3.1 Introdução

A Genética é uma das mais recentes áreas das Ciencias Biológicas que into maio ra bem gera i pude ser definida como o estudo da transforesá a autenomicas de ascendences para descendences. Pasas características cas chaidas de hereditarias, são temporal das de mode inclenado em tudos os seres is. A Genética procura também explir ar como ocorre o anormo vomabo das pre porte ser observada entre e dentro das esperios.

Sendo o maioral genétal i la glande maior ha dos seres vivos. Constitue pelo acido desoximbonis escol du DNA la Genética possibilitaire regras di avers tambs a piantas e an mais si periores ovino aus mucrorganismos. É LNA que estão as informações genéticas necessár as para a manutenção e previencia das espécies. As leis fundamentais da Cienetica toram descritas a pribleira vez na segunda me ade do seculo passado, em civil has il nivolidad pribleira dessas leis em 1900 e as piantas e anumais screin ammente isados em pesquisas genéticas a infradução de microrganismos um nivolidad em pesquisas genéticas a infradução de microrganismos um nivolidad em cretivamente infraduzidos em estudos geneticos iseguindo-se cidad civilas civilas, além de aigas e profozoários.

Instalintrodução to um marco decis volpara o desenvoi mente da Gealiama vez que pour riginismos possuem quandades quase que ideais ni case tipo de estudo. Fies apresentam de modo gera um ciclo vita irapque intribu estudo da ra obvissado de la accensi las hereditanas em cur periodo de rempe send lacela microscopicos dies podem ser de la ados marando número, regiterenas processados e portanto com economia propinão que caranterse das raras prissam ser detecladas em grandes populações.

3.2 - Mutação

s de mutações que ocorrem em seres vivos

-

P h

 \rightarrow

.

3.

. . . .

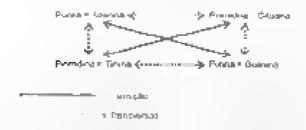
 A skutagåes og abenagåes compassomeda 	
	36

Nurvimos					
	Número de rramousomos				
Haplovsia	-	146			
Diprovida	G.	41			
Ippe0-0-6	11.00			-	
	701 170	***	90.0		
Четарочна	72	*****		100.00	
	-	70.00	70.1	100000	
Descoria	-	-		10.00	
T SOUTH	20				
Duplin sassomin	** 84	***			
Netrocerous	71		-		

ži Ediologo		baltuluma des ununque,omega Seines = regiões cromossómicas)				
Fuego no mal	更复点	de.	g h	k		
Sefodnos ilemna:	a h	d.p./	SL	k		
Gelietinas (marstras)	0.0	5.4.	<u>g</u>			
Dupacação (em tantom)	в b	d e.	2	$\chi^{-K-K-\frac{1}{2}}$		
Drugitosijić (rulo terrjeji	D D -	a e .	А .	(0.3,I/3)		
Investigações	g 6 .	d. e	A	9 z.		
Тивискосаува (несухоса)	a.h	4 0	2 2	de de la con-		

B) Matérères génicus ou de ponte.

A Substrução da Audiecideos.



Adoptió de phroat de em de pounts rupecodece.

Figure 3-1 — Oferences lines de nousigên inor ou en avoi. Exemplor de notacée: croincosos som riginicas

and court or the man man and the street of a series of the series of the

de microrganismos

The first of manager gas, denote all and a set and a set

3.2.2 Mutantes auxotróficos

the region of months and appropriate entitle to the first trape presented a printer the printer of the . P. the second of a space of a second order the kind of the art of the art of the first a a a a a safe to the exercise n n cflaran c a sage at the exercise of the professional profession and the second of the sec est en regardinistration productional to be a property of the second second and a spring to be set I are and the second of the second of the second make ayout a best fitted on after a new month profession to the

the supersystem of the supersystem as a supersystem of the supersystem

principalmente a sedicinario della miliona operatore della sedicinario della miliona d

becomes another a retailerate or and allow the second of t

3 2.2 3 Mutantes resistentes a agentes initiadores.

The part of the state plantage in the part of the part

3.2.2.4 Mutantes morfológicos

This is the presentable from a second through the second term from the first term of the second term from the second term of th

A wash fightered to the mark five and the second of the se

For the side of th

3.2.2.6 Mutantes para virulência e patogenicidade

After one representation of the second of th

The property of the property o

3.2.2.8 Reversões

A second of the property of the property of the party of

3 2 29 Outros upos de mutante

Allega for tipes, how tanties is progressively agreement of address of a greet the day I have a superside that a more as a part of distance as a construction of the appropriate the fact in the contract of the the configuration of the particular standard the processing transfer from the contract of a first first on some approximation of the first to any a description begins a represent a southern a present has the way are the transpared to the first the contract of the transpared to the transp and the state of t A principal to the or that the principal to the state of the principal manners to had come a picturalism to many the stage on me and the site as the same are not a property as a first trade of National states are a results of the regions of a resolution and grante mate and go a close greate management a program to the part of the p and the first the second of the second of the second of the second of the second mage for a peak. It is not being a flown representation of the representation to be more and a second or and a second to the second of t the a tribe upon and there has been been depressed a first life for me and in the second of the second of the second of the read of the same of the despite has been specified as the first fi

a series of the series of the

The management of the second s

ADDRIVED SET OF SET OF

the sky of a lab of the sections of ten la serve a grant a serve a feat a fine a a way to be on the set of the first where the strength of the street of the e who have a North and a second at we have the form a storing to the facilities to I be a real to the first terms of the first terms o , w plate i 4 h 4 4 h 1 t 1 t 1 T 4 4 to the grant to be * 7 7 7 and the second second and the second s h n n n n n n n n ------

Way 2 4 50 40 50 5

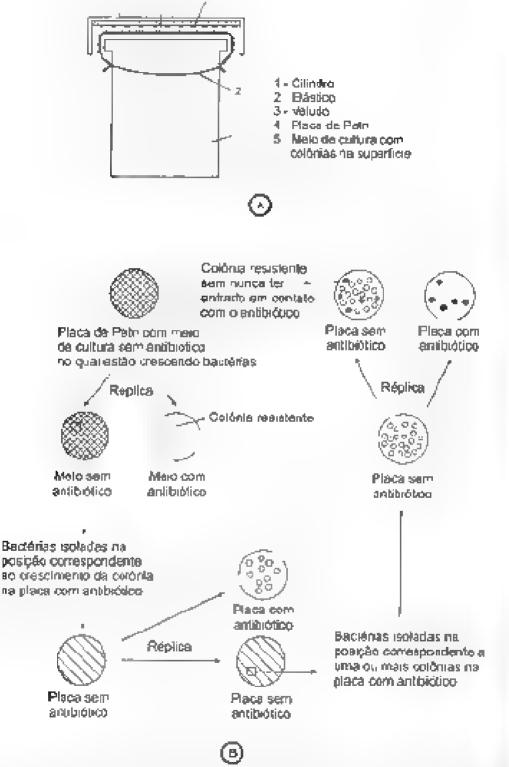


Figure 3.2. A 16 nice de réplica cara transference de pactienas. A, A transferência de colômas ca pauli parigo veludo. B. Apricação de fechica no isolamento de Judénios resistentes a um ambiodico mesucando uno isolamento que i musique para esticação ocume premamente ao contato com a drega.

é usado em casos com resistência poligenica, isto el quando vários genes estão envolvidos, cada um conferindo uma pequena resistência. Nesses casos, utili za-se a piaca gradiente (Fig. 3-3), que faz com que um meio de cultura apresente um gradiente de concentrações de zero até um limite máximo.

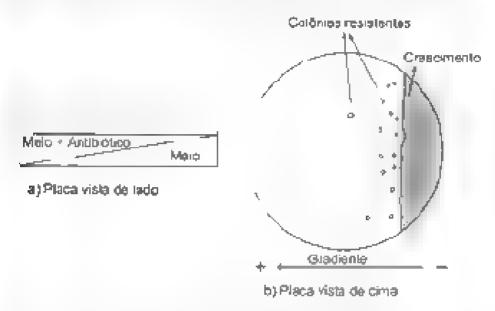


Figure 3.3 Pax a gradiente para el solamento de me unges resoltentes a certos antibióticos.

Dessa maneira linhagens com genes cromossom cos para laita resistência a periori nas, cloranfenicol, tetraciclinas e outros antibióticos puderam ser isoladas (para uma revisão ver 14). O isolamento de mutantes morfológicos é feito por inspeção visua, não existindo praticamente ama maneira de se fazer um entiquecimento prévio. O importante no caso é ter em mente que alterações do ambiente podem também alterar a morfológia de colônias microbianas. Assim, o isolamento tem que ser feito em condições bem controladas. Há necessidade de varios repiques de colônias com morfológia alterada para verificar se a característica é realmente genética e não devido a med ficações no ambiente.

Mutantes para maior ou menor produção de substâncias eliminadas das células microbianas para o meio de cultivo, são também isolados em meios que permitam essa distinção. Para o isolamento de mutantes com produção alterada de um antibiótico, por exemplo, colônias podem ser deservolvidas em meio sólido e depois colocadas em presença de um microrganismo sensivel. En dentemente esse microrganismo não puderá crescer ao redor de colônias produtoras e quanto maior o haio de inibição ormado ao redor da colônia, maior deve ter sido a produção de antibiótico pela mesma. De igual forma, o isolamento de um microrganismo com mais aita ou mais baixa produção de uma enzima do que a linhagem origina, pode ser feita em meio apropriado. Para amiliases pode-se usar meio com amido e verificar a presença de halos e seu u âme ro asando-se uma so ação de todo que vai colorir de

azel as regimes de melle com amido e permitir la personnemo de naticiar la media de el la se que producer are a maior. Processos seme habites aportenes ha sera que el mela de mela de comprese que els melles de contrares ha sera que el mismo en mela de mela sera sobre ae de la financia mela sera que de sera se melles acuados de la por melle de sera a meles acuados de la por melle de sera a mela se entre de tras melles a melles de la por melle de sera a melles de la portene de sera a melles de la portene de sera a melles de la portene de la portene de presenta de la portene de la porte

3.2.4 A natureza da variação microbiana.

The plant of the pole of the transaction and the property of the same of the s

If intermediate was a star fainteen place intermediate in an incorporate process to consider the considerate star incorporate and incorporate

1.1 – Recomblasção em microrganismos

To the most only of a design freezings on a sixt many factors to be a suppression of a few particles of the superson of the su

entropied A foregraph to be at prof. Attending the entropy of the control of the

3.3.1 Recombinação em bactérias

Limited table reservoir as early as a fact that in a secretarial section is whether with the apartic received the CCO to the other open. an three or in the least of the same of the page of the page of the passes. a larger of some elegant terms of a reference of and a serious at them to the better and a particular beautiful Table 454 chief are in a arts or the great in the female treater have a distant the distant and the street of the state of the destroyers he was a case to a few eletting the sub-quite A contract that he has no each to be became na na patrima a la nananana mananana ama a lamantan prajur. to the type the Alexanders have a state of the second agreement of the second profits a that defeate at a long to the control of the for an people of the section in and the second are consecuted to a second with a second state home decision as a balance of consideration in tartion products and the the rest is to the a section of the permitted and the many the control of the absence of the property of the control of the c material gewart, in im bei genigen ein i ge bei er ben fan tat atten betetet ten i grei auft. with a figure of the first and the second of The Republished agreement that a water and again and

3.3 I. A conjugação bacteriana.

provide the terminated pass of a first and the terminated by the second of the second

como do subo em ul mostrou que havia necessidade de um inhimo contato entre as céturas das duas inhagens originais para que recombinantes prototroficos aparecessem "Fig. 3.4"

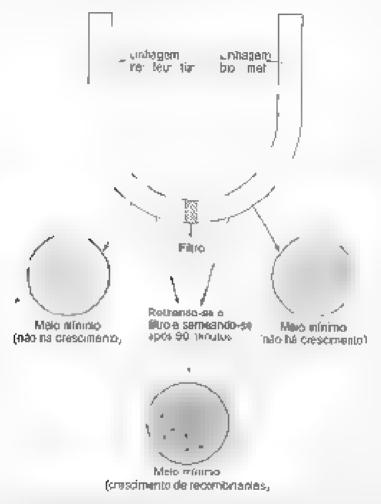
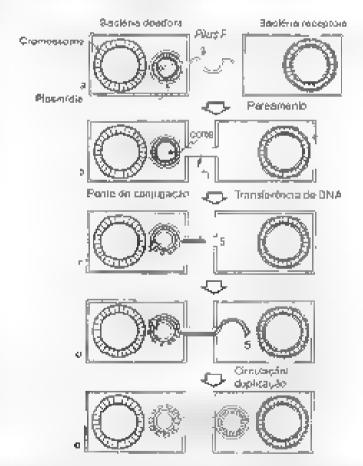


Figure 3.4 De forminge in color as again in las féries por for ligação commutantes recordos dehoentes para a sintése de recordo de la civil de la Tarbola tri. Hojou o la Maioceta in en ligação se em apolés.

O proxatio passo to: demonstrar que existiam tipos de reações sexuais a sexos difetentes en bacterias. Ha es em 952 20° cca zou cruzamentos reciprocos, empregando duas i magens com deficiências autraciona sidismetas e una dema sendo resistente ao anabiónica es reptomicina. Por verificado que recombinantes só i paromam em meio com estroptormicina quando uma inhagem determinada era resistente a esse antibiónico, lisso evou á com usão de que haviam có illas doadoras de material genético e coluias receptoras desse material que recess tavam permanecer y has no meio com estreptorio doadoras paro que a inqualição produciasse recimbinancies. As céluias doadoras foram chamadas que si ou mascuonas e as receptoras do final deminimas. Aus

doadoras eram diferentes das receptoras por contenaiem do cromossomo um etemento extracromossomico adicional designado de plasmideo E de tertilidade). Por outro lado, celulas receptoras não continham o plasmideo E. Mais rarde foi também visto que o plasmideo E. possive mente de origem vira, possula tamba tito bum menor que o cromossomo bacierlano, mas era capaz de onter genes suficientes para sua duplicação autonoma, lato é independênte da do cromossomo da cécula latêm de possul genes para sua iransferência de uma relivia para mitra. Entre esses genes existiam aqueles carregando intormações gene icas para a sintese de imbrias ou pill sexuais que permitam com que o contato entre células doadoras e receptoras ocomissos e que o materia genético passasse de uma ce qua para outra. Foi venificado também que pela conjugação bacteriana apenas o plasmideo. E pode ser transferido apos qua duplicação na célula doadora (Fig. 3.5).



Pigura 3.3 Londiga, do em bactifinas i rai dienencia de Pasimiseo Filia junçar da deruá docedo a 16 i contra derua teceporara. El la partie la representa i nombre la nacia en el elevar sobre i contra de la generar. El la partie la representa de porte la entre el processorio di Ferri i gla de compride contraga, en el contraga, en el decimiento de la refleta de la filia positició de montre entre un el moderno de positició de pasarra, en la restaria focalda par la ecoptoria. Primitivo de la designación de moderno de la filia processorio de la refleta de la sobre de la contragação resultando destre de la Filia positición de sobre a la refleta de la refleta de la sobre de la refleta de la refleta

Nesse caso, a célula receptora teminina não mode genes comossômicos mas apenas muda de sexo. Por outro tado, a célula doadora pode também mudar de seu estad. Et para El se perder o plasmidio. Isso ocorre quando ele se duplica mais lentamente que a celula que o alberga, ou quando a bactéria é tratada por certos agenies como corantes de acridina. Esses corantes são chamados de "curagênicos", pois o processo de perda de plasmideo é designado de "cura". Mas nem sempre pela conjugação bacteriana só passa o plasmideo fide uma célula para outra. Esse plasmideo tem a propriedade de poder inservise no cromossomo da celula doadora. Nesse caso, ele pode transfero parte do cromossomo ou toda, o crimossomo para a célula receptora. Fig. 3.6).

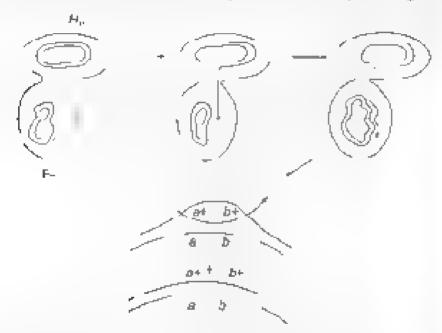


Figure 3.6 Todaysção recterizas. Colou a Hir Trumformica do cromossomo de ceruta vilhipara células Fili Os genes din é rescriscosar locas mais acomoscomosar Meditinado de Ranonoge IIII).

As achaias que tem o plasmídeo ligado ao cromossomo bacteriano são chamadas de Hir de High Prequency of Recombination) e são elas que transferem genes cromossómicos de bactérias doadoras para receptoras, como ocorreu no experimento original ou aescoberta do processo de conjugação em Licolo Attida outra variação de mecanismo pode ocorrer. O prasmideo filinserido em celulas Hir, tem a lapacidade de poder voltar ao seu estado autonomo. Nesse caso na amente ese pode sevar algum gene cromossóm co quando se desliga do mesmo. Plasmideos da regando um ou mais genes do cromossomo são chamados de P. (Flinha ou Filprimo). Quando eles passam de uma celula para outra, carregam gene ou genes cromossômicos para a bactéria receptora. Esse processo e chamado de sexodução (Pig. 3.7).



Figura 3.7 — Os discentes estados do plasmida o Fina conjugação bacteriara. Produção de plasmideos Fi combrans Serincia de um gene cromosiómico A

pares especi icos ocorre entre cêtu as doadoras e receptoras, mas turamente ambem entre duas celulas doadoras. A formação de pares não e exatamente ambem entre duas celulas doadoras. A formação de pares não e exatamente ao acaso, mas envolve um processo de qui miotax a londe ho atração da re ma mascultina peta temenina. D. Formação de conesão celular cer a através do prios sexua, piural pro l. c). Mobilização e cronscerencia do cromossomo ou do plasmideo P na P. apenas uma fita de DNA seja do cromossomo ou du plasmideo, é tiamerida. No caso de transferência do cromossomo ele quasci sempre só e em parte cransferido, a quebra da ponte citoplasmatica entre as duas velsiam é comum durante o processo d.) Integração do mater a, genetico na ceita receptora, ha pareamento de regiões homologas da lita de UNA proveniente da celulas dinadora e cromossomo da celula receptora. Pelo mecanismo de permutação ou "crossurg-over" var hay er entro a formação de recombinantes, que podem ser solados em meios apropriados.

A AMPI TI DE DO PROCESSO DE CONJUGAÇÃO ENTRE BAC-TÉRIAS — A em de ocorrer em E celi e ou ras enterobacterias, a conjugação já for descrita em muitos outros gêneros como Vibrio. Pseudomontos. Rh. autorim e inclusive em generos de bacterias gram-positivas como Streptomicos. Aucoles, Streptocorrus, etc. Existem pequenas variações no mecanismo de acordo com a esnácie, mas as características gerais da conjugação permanecem as mesmas Cruzamentos interespecíficos são às vezes possiveis entre gêneros aparentados, como Eschencina e Stagella. Pseudomonas possuem plasmideos designados de P. A gans deles são ditos plasmideos promiscuos, pois podem ser transferidos para generos bastante distritos. A descoberta dos plasmideos P foi de

public along the months of a second experience of the particles of the contract of the contrac white a stage and make a gar in the extens proceedings for the e if short past and N heliushill to how it closed by I dade life to page 6 hamale and the second of the second o gree V year age to be more many many many and the first of the with the same of the second respect to the second att a man a series was seen as the boundary is a second of the second of th the plant of the property of

I H A A R COLON I A COMMENTAL grande para to de de merco y to a to a militar de merco de la compania del compania del compania de la compania del la compania de la compani the standard ways from the experience for a figure of the figure that the state of to the same and th seed to a contract the contract to a contract the contrac the property of the property of the party Many (to) was at any property of the transfer of the property of the property to be take a mark had a para haden are seen a remaining the book reside and a standard 100 1115 me to a seta series a facility and in comment of the court is greatly a great to the same of the part of the factor of the first of

3.3 2 Transformeção em bactérias

the first of the property and the second we while the terretain and a the deal projects to a final and with the state of the state of the state of to the grant there are a second or tax or many tax or 41.4 the same to be to the same as to be a First Each Control with a second of the approximation of the approximati present to be decreased to the first to any Many than decrease Count in in a board attention when bearings or and the fight of the first and the second of the fight of and a man and bend have any war and we was the second of the secon ed to to me and major 185 something of the exist. the factor games and project and analysis of the project and the second and the s • k to told to the per warre may any part to the disk

a series was the series of section to be a section of states. \$ 4 th gift stee on a top gift do at 10 to 5 to 5 top to at 10 to a war of the management of the first to the a the second period with a second company of the a street and a street and a street a branch or to his proper to got moderate or a the state of the the product of the same of the y a so to design the defendant of the a find a thirt i form a state of the state of the square as be a compared as Jan 20 1 1 1 1 1 1 1 1 1 4 1 7 1 to the second se I have a second to the second . . . * P - 1 P 4+2 1 1 1 1 to a second the same

descendentes (Fig. 3.8



Fragmentos Ivras de DNA

Papers 5.8

the test of the control of the test of the test of the control of

A particular space that the structure of the structure of

A few facts to transform extrementations are a constraint to the few facts of the state of the state of the gales, and the meaning it is as a constraint to the state of the s

3 3 1 3 Transdução

All in all traces of the court of the free-amount of a formative of sects device the destructions for his text of the court of the co Ele pode ser considerado um refinamento do processo de transformação. Na ransdução, bactémas são também modificadas em suas características genéticas por um DNA, indo de outras bactérias. Entretanto, nesse caso o DNA e carregado por virus que atacam bactérias, os chamados bactériofagos ou abrevadamente, tagos. Esses tagos infectam uma determinada bactéria, isam a mesma e podem ter um segmento do DNA bacter ano substituindo seu própino DNA, ou mesmo ter alguns genes da bactéria incorporados ao seu genoma. Assem quando infectar uma neva bactéria, ele val carregar esse material para a celu a hospedeira, desencadeando a transdução.

OS TIPOS DE TRANSDUÇÃO — Existem basicamente tres apos distritos de transdução genera izada, especifica ou restrita e transdução abortiva. Cada um deles variser visto em seguida.

TRANSDUÇÃO GENERALIZADA. Se um fago isa oma cérula selvagem o depois vai intectar células mutantes, dentre elas aparecem algumas contendo genes das ce ulas isadas. Em geral cada el ula é troché caua apenas para uma característica genetica. Isso ocurre porque como já mencionado, quando um fago alaca uma bacteria e mata a mesma, algumas porticums ymars das centenas ou um bares que são liberadas, por um erro de neorporação, possuem um pedaco do DNA do cromossom, bacteriano em lugar do DNA do próprio fago (Fig. 3.9).



Figure 3.9 Arrangouse perendunación outlifras Olympi Arian et and automobiles algente Ascélos receptions

Resultam assimide uma celula isada um ou poucos tagos que contémino interior de sua capa proteira DNA de bactéria isso não impede que esse lago o terado intectu um nova célula e metro o DNA dentro da mesma. A les identemente não vai haver lise mesmo que a celula receptora seja sensivel ao fago. O DNA no interior da bacteria rai se comportar como na transformação, isto é vai haver um pareamento entre esse signiento adicionado a celuia, com o correspondente hombiogo do cromossomo bacteriano, "crossing-over le aparecemento de recombinantes. Nesse tipo de transdução, qualque, gene bacicamo pode ser carregado da céluia domadra para a receptora e por lesso cla e chamada de ransdução generalizada. Como são muitos os fagos que invectam diferentes espécies de bactérias, o processo é de ocorrencia amplia, tendo sido detectado em diferentes generos de bactérias, tanto gram-positivas como gram-negativas.

sos que ocorrem na transdução restrita

нао посогрогацаю

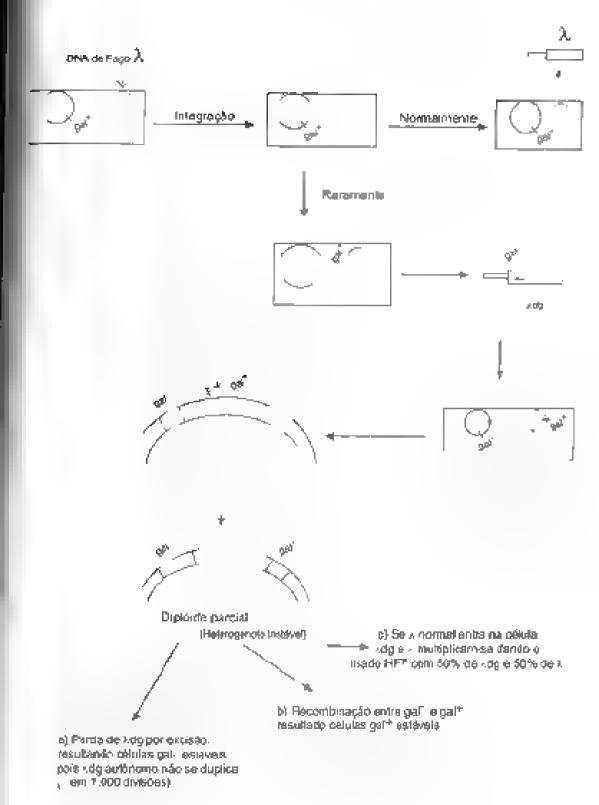


Figura 3.10 — A transdução restrit, em baciéna com a passagem do generia, til seção da galacios enomo forde de carbono (gd)

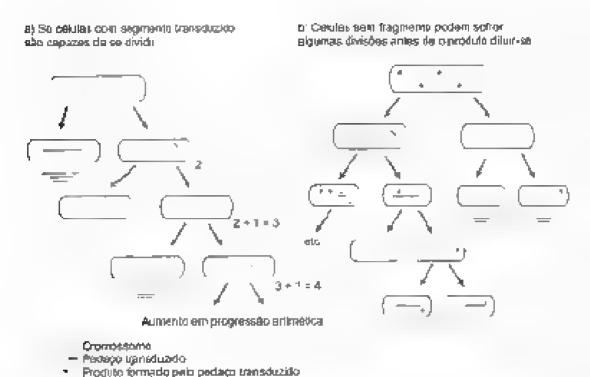


Figure 3.11. Transdução abortiva em barterar. É se apena, a réfuta o in recento ofragmento transducion cum interpretado acontecem sobre deprenção lo aumento do muntero detratura oconte em integresso autimetros do muntero detratura oconte em integresso autimetros do muntero detratura ocupação interpretado lo interpretado do interpretado de maismo entre em o hagmento lo invisuado ambém sobre um um ou pousa auplicações, devedo a existência de maisma entregen a microcortoria, visir am posa o maitro que no cara antenor.

OS ESTACIOS DA TRANSDUÇÃO — A transdução pode ser dividida nos seguintes estag os a) Formação das particulas virais transdutoras e seu transporter o processo nos três tipos de transdução é reito pela incorporação de parte do DNA barteriano ao do tago transdução específica ou restrita, ou por substituição do DNA du fago pur segmento de DNA barterians. Transduções generalizada e abortiva. Entrada e destino do DNA dentro da paçter a receptora a entrada é festa por injeção do DNA contido na capa protética virai para o interior da célula receptora. Se o fragmento for incorporado ao genomo da receptora por "emso ng over" ocorre a transdução por substituição como no caso da transdução generalizada. Como o DNA do fago é circular (ver Fig. 3.10) uma permuta ou "crossing over" entre dois DNAs orculares resulta em incorporação do DNA, que foi introduzado pelo fago, sem substituição. Se o DNA não foi incorporado o ficar, ivre na célula, ocorre a transdução abortiva

USOS DA TRANSDUÇÃO — Como acontece no caso da conjugação e transformação, a transdução pode também ser usada como um sistema genetico para mapeamento de genes bacterianos ao longo do cromossomo. Uma co-transdução, isto é, duas características frequentemente sendo transduzidas em conjunto, reveia ligação dos genes envolvidos. Estudos de complementação

gen da lambém su vieu izados sita transdução Bo, tra il agos e dultris. Irus produtir la o er ni se il contras, la seria, horaça sem plasorados o serios serios estas la regenharia Genetica. Al as le asmidicos e tagas tem musto em comune supon a las que a origen dos plasmideos estas lara.

1 A Transfer to make the property of the property of the property and the property of the property and the property of the

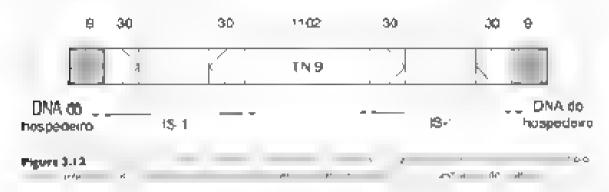
Os tres sistemas, de recombinação descritos a ima não sor actefatos de aboratorio e desem acorrer na natureza, permotindo fixos de mater. El gene colem bactertas. A eles podem ser adicilidades mais dois a siemas. En ime re também nasaral e o segundo consultand ese muito mais em uma manipalação genetica em labora on a colque um sistema natoral de fixos de DNA emire células.

FRANSID NOWS O genoma discheros sos se sempre for considerado. immo romnado por semen, as bastante estave y somente muy fundas por muação Embera exestissem exemplos de gao o matemat concluto proofial solder. ransposições de o mitor i para tratio di germona, in a e n il dio 2 he mesmo en a growth contrator of the delical symmetry of further queprocesso de transposição tosse elucidado do norto de vista movecular em bactehas ipara que e e pudesse ser acedo demoto apiento pe os geneticos as il se sihe so gue la me la sero de transposição e goral e se constitui em um process. que al menta a labaja pade nos seres los sendidogrando apportan la palaa evojucajo neg dagas genica e diferensiação. Transpositios toram pela prome la ser describir di ponte de sista minecia an quando se verricoto que mulações chama, as polares em sestemas de regulação genora bacier aná eram causadas. per seements of DNA mendes on generalises segmentes on in interfere segments, com ren mess a "Ot a 1.500 pares per publications que a solitication y ignias e i otindas in proprio dievarias to de narrapresção. A Tab 🤼 aproxima algumas perpriesa des de diferences transposoria-

Yalpah 11 A		epe v -	1 24 11
T popular de de	Tapogobios gargo la basis	Numer departs to their contracts to a discrepation	Scommon die prostousa considera
5 IS-4 IS-5 IS-10R	68 1428 1 95 329	18 16 22	2 2 4 3

Logical separationary describes out row elementow transport veis emittacte rule bem moiores que les le carregando genes consultes de rim shinica a anti-bic consideres bases genes eram flanoueados nor Proc. Conjunto for chamado de transposen (Te). Alon mente, anto in como To tomam a designações geral de transposens. A fig. 3, 2 m estra um desses transposens. Norma

mente uma bactéria carrega varios transposons. A inhagem de fi con Nazpossul peto menos 44 transposons em seu cromossomo el rés em seu plasmideo F



O MECANISMO DE TRANSPOSICÃO : O processo se micia pela da plicação do elemento transponive, e termina com sua inserção em outro locado cenema. A dupocação no acarreta a locomoção do transposon original. mas som de sua copia. Essa copia va logar se ao IINA alvo em nu ro local de croprossome nu elemento extracromassomica, viais deta hes sobre esse, mecapismo e sobre as enzimas envolvidas ipadem ser envantradas em revisões. sobre e assunto 1, 27, 28). Esse sistema, logo apos sua descoberta, foi chapois independe das enzimas normamado de "recomb nação eg ama mente usadas para etercar recombinação hass la atraves de permuta cuprossing-over. No entanto, logo for visto que esse é um siste valida datuda. quando o anter ormer e cinheciaci A transposição pe unite que in transposons funcione e de no interrupacion es en sesa aus de regulação, permite que por so primações deneticas sejam introduzidas em umo ce um e apresenta posign um pintencial muito grande para aumentar a variabilidade e sobres ivencia de celular Possis e mente, piasmidiens deogrados de R. servelhantes an Elmas que carregun genes de resistencia a um qui car los agentes imbidores. de bacterias come antigo du os quim nerapicos e metals pesados, teram formados por transposições de diferences origens, selecionados em um piasmideo un co. La ipilismideo confere as bacterias uma initagem seletiva na presença desses inibidores.

ONO MIRADO PARA OS DE TRANSPOSONS. Corros bacteriotagos como o No. Miradori tambiém con mami importansposons, inserindo-se em latias regiões do cremossome bacteriano e causando mutações. Em lungos filamentosos e la oduras também são relativamente bem descritos casos de transposons. Em leveduras variações no tipo de reação sexual ou imating typos são oras madas por transposições de materia, genetico film piantas e an mais superiores também transposições do materia, genetico film piantas e an mais superiores também transposições foram detectadas em grande número. A desco berta desse sistema de recombinação lança a pivas luces aos tenomenos ligados a alta instabilidade genetica apresentada por alguns microrganismos e diferimente explicada pela genetica apresentada por alguns microrganismos e diferimenta, tipos de teação sexual em la cuaras, aos abilidade micro coa em fun

tencial al varios in billites circ or as has enarias e multis notine to tradisposons sa responsas ces pir ama verdocerta Engenha ia Generala in a flas citalas lim alguns mich rgan smos que si em dertre de plantas, se endor los parce e sestir tama certa co in demina li, genes igialis ou seime affice circa i bos Se combinados esces achados est no demonstrada a sos su i ande cer a districtiva por transpos ac cui modanism simular entre genes de comos de reins a diferentas. Esse y ocesso ja orientino situad em bacterias que causam temores em piantas come as dige ie a la cha i con moderna de reins des cos grados de l'i incorpa rade de genoma da parta Entretanto a existencia de con this genes centre generos taminas su mesmo reinos el stintos pour dem mestar que a Engenhar a amebilia e pricos sino timbera na ura de recombinação usua a pictos sores a toris embora econ ra com trequencia reduzida.

A TICNO OC A DO PNA RELOMBINANTE. Dosceta nella prima ta vez em ba, let as rollin lo designes? La techno por de DNA nellimbinante les aministrates rollinas estados as seres vez se Ela el considerada uma sitema de recombinação estados as seres vez se Ela el considerada uma sitema de recombinação de materio genetico ae de las electrodoção de nicas ara de si cas has mesmas. De ponto de vista se actual elam sistema de recombinação que admenta a possibilidade de obto cum abilidade. De ponto de vista biológico pologico ela pose produzer inhagens de reportância de nomeza a ser a sa vera esta em deta besión ou recapitado desta mesma publicação.

3.3.2 Recombinação em fungos

Como aconte e em bacterias, a recorrbinação em moi tax especies do biesgive people recorded post to an de late therapische bonde mai congamismos escarios. turn on hand to prosper the few the terms of second similar as dos ar mais e plantas superiores, entretante grando parte. de cido tira. Jama, maidos, in in eleborar te la fase il ploide e nastante rapida pris assimigue constructero se timbere e the immiliano diplinate scorre menose in vera to exist to haplaide. Alem di mais os chamadis Funços Imperte l'is du l'euteromi, chis nan possitient pira n'a rial tem descrito ses cian second Nesses language mesma empatitos am posa em jala secua es ste am sistema alternativo de sevo denominado de culo prossexual descrito pela prime ra siez peir i obtece so e il neromi asi. 19) Tambero emi 185, so a semelhança das bacte das tra sformação por DNA node sor los tivo mos presis ema de recombinaça. Hara forçar a parassexualidade são insadas te no as etalientos cimo tassi, de protopiastos, hipazmente, também da mosma manet ra que em pa terras la telibility a de DNA recombinante pode ser usada parproduzir nissos genotipos lasses sistemas de recompinação em lungos se a apresentados a seguir-

3 J 2. - O cido sexuai em fungos:

Como mencionado ot fungos são cucarioticos e muitos deles con um processo sexua com fusão de nucleos haptioides, produção de núcleo diplóide e meiose resuliando novamente células haptioides. Cada espécie de tongo que possur ciclo sexua apresenta caractetisticas próprias nesse cicio, más o objet vo de sua existencia é sempre o mesmo, sto é produzir recombinantes. Alguns fungos são homotálicos, ou seja não possuem hipos de reação sexual distintos. Nesses caso eles podem se autorecundar o recombinantes não são produzidos. Eles podem autoria sofrer cruzamento com outro taio produzido recombinantes. Outros fungos são heterotalicos, cum dois su mais tipos de reação sexual ou "maling-types "distintos. Nesses losos só unhagens de diferentes tipos de reação sexual é que se cruzam. As Figs. 3.13. 3.4 c.3.15 apresentam os ciclos sexuals de três diferentes espécies de fungos, dois filamentosos. L. Aspraya las autoras (homota ico le verirospara crossa (heterotál co le uma les edural a Sarchizomities cerevisiae.

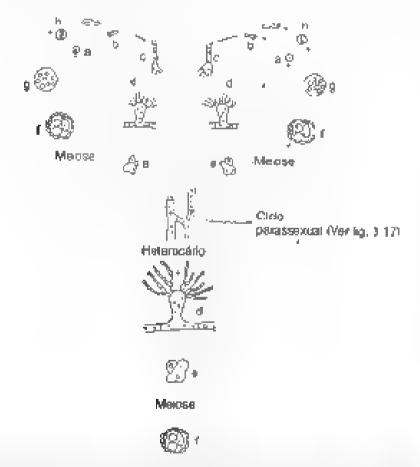


Figure 3.113 Incompose to ingrusprigues industrationed addide Agrange e Easte, 91 at lighted in Quarter of the productions and a rest of the productions and a rest of the productions and the production of the

Todas as três espécies têm sido amplamente usadas em Genética. Nosses fangos e em ou cos que possuem ciclo sexual fica taca estabelecer ciuzamen tos para estados genéticos e para program as de melhoramento genético. Existendo mutantes, la análise genética pode ser realizada com facilidade el dependendo do fungo, as análises podem ser feitas a partir de esporos sexuais ordenados em compartimento do corpo de frutificação, como ocorre em Newrospora crassa. Pode ser feita também por análise de esporos sexuais não ordenados como em barcharomyces ceremistae ou aínda, por espuros sexuais coletados ao acaso como em Aspergilhos natimans. A Fig. 3.6 mostra a guas exemplos dessas análises genéticas.

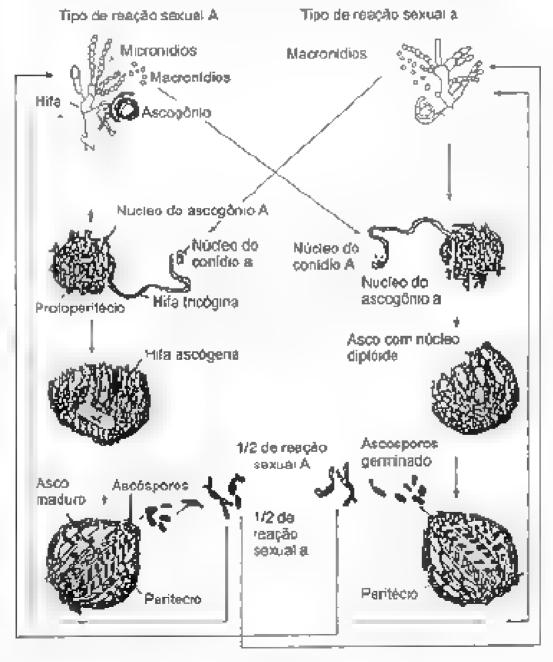


Figura 3.14 - O cido sequal no fungo Neurospone chaso Strickberger - 31

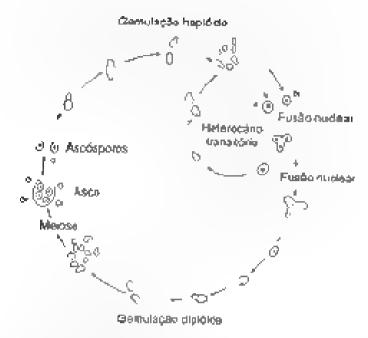


Figura 3.15 On claises ust null execution procedural procedural

3 3 2 2 O octo parassexual em jungos

O cinlo parassexual foi descrito pela primeira vez no lungo A indutaris Graças à existência de mutantes para coloração de conideos e mutantes auxotroticos foi possivel colocar duas inhagens de cores de conideos distintas e auxutrófias também distintas em um meio liquido minimo, com uma pequena quantidade do meio compteto para permitir apenas o inicio da germinação dos contideos. Nesse caso ocorreram anastomoses de hitas com a turmação de necerocários (dois nucleos geneticamente distintos em um citopiasma comano. Esses heterocarsos podiam crescer em meso minimo, pois um núcico formed a olque, ahava para o intro Entretanio, como o fungo tem conidios. unimucleados, os conideos dos heterocários eram, guais aos das imhagens que o formaram e não podiam crescer no meio mínimo. A semeadura de muhões de conideos provenientes de um heterogário em mojo mínimo produzio, en tretanto la gumas colònias prototroticas. Essas, com surpresa, eram dipinides. o que toi consta ado pelo volume de seus canadoos, que e a o cab/o do cas. Inhagens originais que formarare o helerocário, pela quantidade de DNA em seus núcleos que era também o dobro da encontrada em conideos hapleides e pela possibilidade que essas colônias turbam de formar actores, pru-cipal mente se transferidos para mejo completo. A anal se genética desses actores revecou serem a guns recombinantes hap dides intiginando se por um processo de não disjunção com perda de cromossomos até o estado original hapióide sor atingido Ulutriis eram diploides originando-se por permitação ou "crossing over" mitótico (Fig. 3.,7).

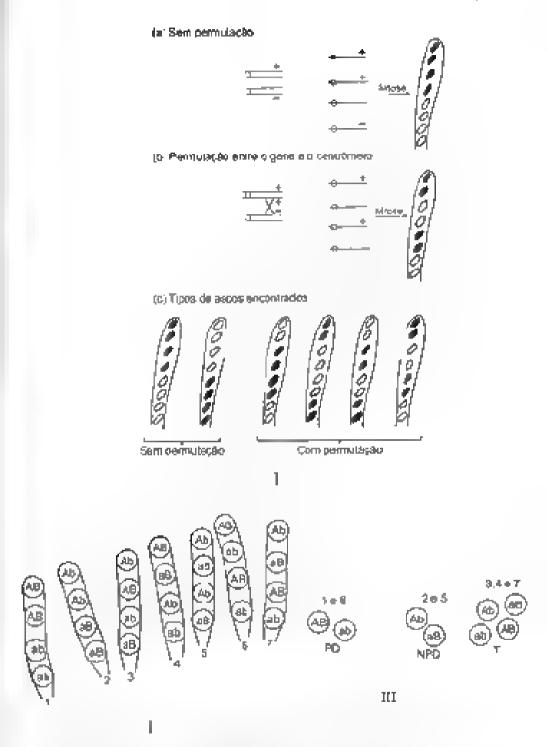


Figure 3.16 Framplaced according to the control of Antide gentliculer funços furnered according accidended and accidended according to the control of the co

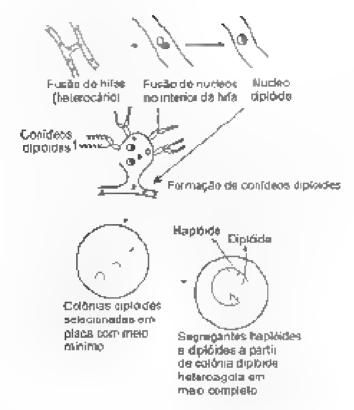


Figure 3.17 O colo parasserual em fungos

I'm ambies os casos apareceram recomb nantes, o que permitici um novo processo de anal se genética propiciando iim rapido mapeamento de generem seus respectivos crimiossomos. Após ser descrito em *A. audidais ele* foi considiade em aspergi ais *nigar. Pericantim chrysogenim e m*ontos outros, am gos imperfeitos que nacipossis am cicli sexua e que portanto, não eram faciemente estudados do ponto de vista genético. Dentre is deuten micetos estão importantes fungos de interesse protectudos do at lizados na procução de am tibiolações, ácidos organitos, enzimas, no controle ba algido de insetos etc. O cicli paraisse cual de nicia terma iva de sexo permitir que o genético e o melhoramento genético tosse term com grando sucesso como em A algar Trichaderima o Pericadama. Em 4 auditams que possi i ambos os ricus sexual e parais sexual, uma compara aciente os mesmos pode ser terta. Tab. 3.2)

Hoje o como ja e conhecido em dezenas de tungos. Tab. 3.3). variações nesse ciclo podem ocorrer. Uma detas, descoberta em 4. inger e a parametose (30) unde recomomantes podem ser obtidos sem iso amento de um diplosde estável. Fig. 3.18). A parametose á fol descrita em fluoremo basando a Matarb com amago ar ambos de valur no controle hiologico de insotos (3.12 le pode ser explicada como sendo na isada por diplósdes transitórios, transposons ou mesmo por transformação dentro das hitas.

Tabela 3.2 Comparação entre os principas prent is que ocomism nos relicit se maior paraculando

Tjefa jaronata

l Tuxão curdear em estatuturas especiaticadas nas lititas. Espeçando engotos diplóidos.

- O angoto formado é efemezo persistendo por apenas ama geração miclear.
- Meiose com recombinação meióbra no estigio de quantifica e totalas estigio haplóido.
- Os presi dos moióticos, ascásporosi san facilmente reconhecidos e soladas

foreign population than

- I. Pusão ni icidar rasa em qualquæ pinito da lino, quando diplordes
- 2 O diplande não defensem e sofre mitours, dando mais nucleos a pión des
- 3. Recombinação ana por permula ção en rómea Chorre haptor 5. ação zara por cão dispanção
- 4 (ly recombinantes mitóbilos se altizados man adore: apropriacos, emergem como setute contributo el colonias e ploidos

3.2.3 Fusio de protopiastas em fungos

Embora seja um mecanismo parassexua, de obtenção de recombinantes facilitando herenicariose, que co primeiro passo da parassocia idade la filsão de protopiastos, pela sua importância, vai ser descrita separadamente do ticlo parassexual. Mesine con tungos que possuem ciclo sex la fou parassexua. a finterioraniose nem sempre e possivei, devido à incompatibilidade de anastomones ocasionada pela parede cel·uar. A poss bi idade de se produzor cel·las a ciramente despres das ou apecas com resquicios de parede celuiar os procop astos com cota ausencia de parede) ou esteroplastos des do ao seuformato esférien em me o rico em estabilizaciónes osmoticos iplidendo conter ou cao restos de parede) abrit, a possibilidade de sertand ricclaias as mais diversas man so de trongos mas de praticamente quaisquer ce mas emas. El F dentemente quanto mais distantes são as ce was de especies rusionadas. mais dificili fica sua viabilidade e multiplicação. Protoplastos podem ser obtidos de diterentes maneiras, mas, de modo geral, o fratamento de um fungo com enzimas que destroem a parede ce mané o prefer do less, é leito em meto com alta concentração de sais ou acucares, estabilizad xes osmobcos), para evitar o rompimento das cétulas. Os deta nes de obtenção de protoplastos podem ser encontrados em vár as publicações 1 2 27 33 34, 35, 36). Obt dos os protoplastos, a fusão pode ser fo ta por adição de agentes fusagonicos ao meio como o policidieno glicia du abreviacamente PE. Tou por conrentes eletricas, por an processo conhecido como o etrotasão (Fig. 3-19).

Tabela 3.3 emples de espécies de largus onde come o colo proposocial

Aspergitus anstelodani
Aspergitus flovus
Aspergitus flovus
Aspergitus flovus
Aspergitus flovugalus
Aspergitus indutans
Aspergitus inger
Aspergitus orizae
Aspergitus orizae
Aspergitus solae
Beauvetta bassiana
Cephalosporium acremonium
Cephalosporium acremonium
Cochiologis Satiens
Coprinus functarius
Coprinus functarius
Coprinus tegopus
Ducuostelium discotteniu (m.

Dychyostelium discoldenni (mircomicelo-Fusarinar oxysporum f sp cartisteph. Fusimium exusperum F. sp. cubense. Fusariam organium f. sp. pişi. Eusamuen autolens Metarhizum amsophie Милогропит дургият Penictitium chrysogenum Penacrituem digitatum Provincibliseen steunersman Petrecoffuers, against une Phyconyces blakestennus Plegaratotreçleure onemporum Phylophthora infestans Piricinaria oryzae Paccana grammis tratica Saciulate appearance acceptor sand Schalophyllum chonsmuse

Listriago horder Listriago mandas Listriago violacea Versa, vitam nebe a, sum

Verticillium doliline var tongisponim

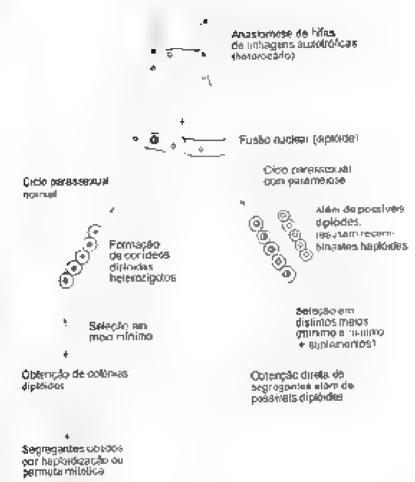
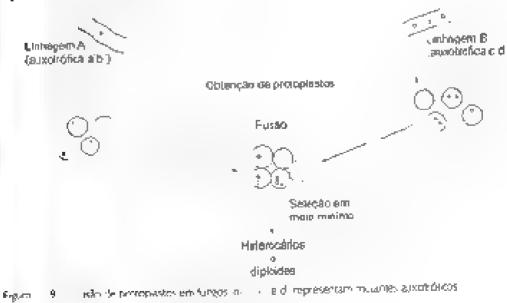


Figura 3.18 — Сотрагаção егдте оново рагазорим брес е а рагатиское колтолдог



the must be protopeds as usades, apends alcons some mitodo. Englishment em de tama se nicido dos medidos de fando, que mila facial se homen acadas. Charges with a charles as the printers of a stagest stages provide term a dispute the forgether to be treated to be able to each make the paper of the control of a control of the formation of the control of t phagena melante i em anticume asse movime a area. Je seco predicto de figurdictionale o received mante, products ser obtains in a bar cotan de enterir attil I da de compidas pero uso de protoplastos, permitram, que buste a subsesere serte utilibe entre especies i mesmi generos distintos as ninglis. O crimenopaying a been don arbein a fe to a towar fe fe as impossible to as straited as 4 or factly it is the reason to product order to some process where some large area a perhe mapped generally in days of the expression, who have posses to into the day we excluded a multificiated or matter strip to stream air apprentimentals at the control does in common and the st di protopassos. A calmenti saci i filhecidos me tre lases de fascio de produptions on the distance using will arrow to be Algorithm decision forms printo make the state parties discussed a top inclustrial como em careta sua aperher non-new production for any blocks, or autopostical 35 event revestation para time. throughout. On telepholousin ambem tardamentars vara que nutros of cession de the imbinação possarp se lacidos em torque como a transformainsigner tements, it me inflanal Genetical Endoptastos de funças saiemplings les tamb impara sepa ação, lefrotores, a da cromoso im seem ga a catampo pulsado (38, 39)

3.3.2.4 Transformação em tengos

emailican grations difficultades de con de fingue em Silving a Millipedar so a menistro carde a ancida na fele cianda de libra sus mesmos carificante e The Arrivant Review of the Arrivan Arrivan Arrivan Review of the Arrivan Marketine and Control of the Arrivan Arrivan Arrivan Review of the Arrivan Arrivan Arrivan Arrivan Arrivan Review of the Arrivan Arri do all as men weeder that ment on Silvin in the appending of as mechanic NA de innagem selvagem lina transloppiacamie mila in terque de marte beres e en trada amantes mare nota de que en 1978 que a fram formação penetida e sistifacións requireca enaciones em Silvia da reasonate tarde mission is casego I and a long-correct season been established to not make it cannot be up 25.4 as sadd the simple a me des a terregion la giornia de magina la entração do a Nicidado de la calegra de la cal BY the transmission trained grown and have the other erest elected with come prison do ser a ligrarda como en la selectoria de provincia montre conserva de prisone e a proparación des la como releptoras. E as tem y a lestar em que esty to de proming that have been ready men commenced for our contrast or healthing and a proming comincetato de litro em resedir as incerta, protinas bizando as le cios em funcion il amendoccio. Il displostos em presenca de 1 si qui per cici de vira a St. mile peoples was IN Verygono Enalmentra of school of INA-regene lem geral plasmateris com genes de tangos em leta as haspede ras lem duz transformação

la tres destinos desse DNA que penetra has colouis. Ele pode los integrado ao cromosoumo de tungo em local de homologia com la genoma carregado e e pode substituir o gene hom singo no fungo que pára a regido ber insendo em outir alocal dia genoma diatungo que pára a regido bomologia a que fim qua lider dos casos esta os arendo res imbinaça. Dessa maneira o processo de transformaças em lungos e de giande importanças para a real zaque de procupas basocas e aplacadas nesse Reine.

A A A THAT ARE TO S

A transformação genetiça elucidada e terrada retira em fungos la tada la racijoade de producă, de protopiastos forneu possivili a apacação da periodegia do I/NA necenili nunte poe mesmos. Atua mente a docagom de genes em Firegon a sua expressar e a apparaiente des izada, ambiá anoc sobre maneira asreas hi idades de obtinicao de no es practitos reportantes do ponto la vistabustoone argues, tendo esses mic organism will mic bespectives for ngos, and so est anna it in gir alem de como cami sa lesados ha meco tempo los prodelacide bebidas, ammentos e armacos, sso faz com que ser uso con civil nos rapidable artist notice raside i en cuca an ientalicide desgade increede rias, principagne ite aif. Id. Detailes are associassides in legal poder, set etout ades et « Azerca » 1/2/27 Com Dillown stille ne op are notice large harm the other restrances a publication. Derivation of vestico week to 8. negla. Molecular surigi une san bena ca nosas rece neglas para a separação de rome shorten para estuder variate idade genet, a e pera mapsamento, romosspecie l'epitre opatrais, sons legionicas san el influe dus port sie de CMPO WACE para separação de remosa amos em ampo pulsad. em 39 de P. "CR a RAIT? para mapagemente genetico e para ampoleação de segmentes de PSA e estudos de canabil da se. Elsa haro perm hais um maior por his imiento. the Employer of the progression again a points do visit de sea committee. Menis that for it tends is processed to methodoment's genetical

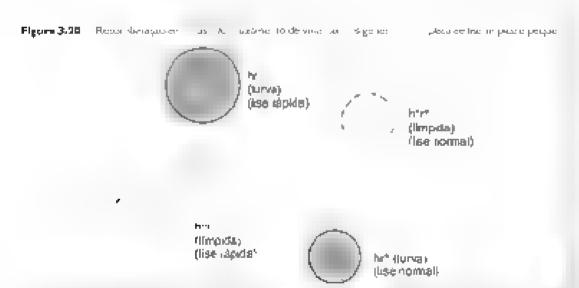
3.3.3 Recombinição em lutros microiganismos

recent the tax of this extend a gent has been included logisering internage temberated securities can also algorithms as the Result mediaments seems appropriated as a principle section in the results make their measures.

3.3.1 - Recombinação nos víros

but a perpetitive amount a saw their days to importantly as new to perpetitive as meating general is consist the track of adoption of the period of increasing the consist the track of a empression who had been also be consistent as the consistent of the consistent

sistema de recombinação. O processo é simples Intectando-se uma céluta bacteriana com duas ou mais linhagens mu antes de fagos, ocorre sintese de DNA no interior das bactérias, que depois de algum tempo sofretir ase el liberam partico as de tagos. Der relessas par toulas, alem dos tipos parentais, apazecem recombinado es. Um dos primeiros exemplos de recombinação em tagos for descaberto par Rershey e Rotman em 1949 (41). Eles intectaram duas mhagens: Bie Bi 2 de Filcoti com deis tipos de barteriófagos, o primeiro com genôt po k+x+ (li+ tem a imidade e ataca as iduas onhagens de Filiati e r4 da ise numbat i l'o seg indo com genétipo bio (ataca só uma das limbagens e remi piaca de lise ràpida e portanto maior que o seis agem ++). Apareceram entre as particulas virais que resu taram das células usadas os dois tipos parentais, alem de dois outros upos, os recombinantes h+r- e h-r- (Fig. 3.20). Experimentos infectando-se bacterias com três tipos de fagos mostraram que recombinantes entre os irês tipos podem ser recuperados. Suas irequencias são compativo s com permuta ou i crossing over l'entre eies, sempre dois a dois em vários ciclos ou ful nos de recombinação.



Authors out the New of Self-Maid guided ness campos parents. (Internal the condition in present through the New August a meson to send you do should de send possible send

Es bacteriótagos e autros virus são tambem de valor na tecnologia do DNA recumbinante como retores de genes e como modelos para diferentes experimentos genéticos. Também sua importância aplicada veos sendo cada vez mais acentuada nas areas do saudo e controle biologien de insetita pragas da agricultura como é o caso dos bacil ovirus que são paragenos de importância para pragas como a l'agarta da soja. 2.34.421

3.3.2 - Recombinação em profozoários

his person sulmente apos la descoberra de ligido la telesa servicial la pri-I your to provide gament a compression and quiet records repositations. Some tea not seek to retain the general to the class of month man to the pure a make a charge a deposit for any events been buckets primary elected with my adden a new expension to appropriate and on the end of the to be a right of the top for all these concerns to the telescope to the design that and the more protesting than a discussion amount of mentioning in same the bookdep asserting taken a Napaticia is his tot I exil provide the leads are traper upon by the event traper of the event of the ev assertional and samples the figure estroys among the first his box tian elevent has havepred as weeneds even, it and paradies on carried of my some a disascentials de tipos de tracias sestial opinione. or example or those that is a street measure more many street are in a himself to qual the semicado e na fosque strescopementos e que polique constructed on the form of the garage of a road sa flande a religion di parre succer en la est la ser sa lamar (e senere). notes of the design of the property of the design of our or of a solete for a pertiagon any attention reproducts duple one distribution of a section in the product of th an esta an er indiagenera. Ne trea resilitare en as en impresente les communa terração acar for a

and oposts

Chip stream which the appropriate spill retailed great and according to the fellowing the according to a continuous and according to the accor

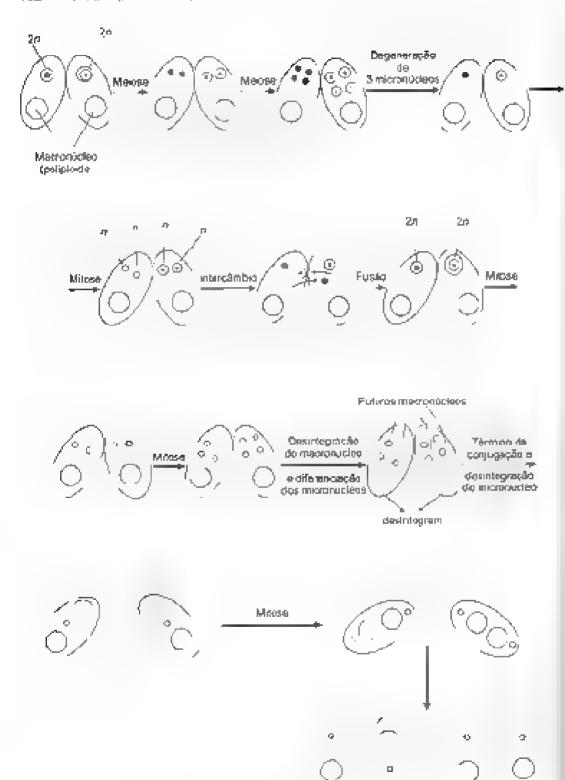


Figure 3.21 - Breen, St. vektoria n. a točta - T - for e - p. 5 - 6

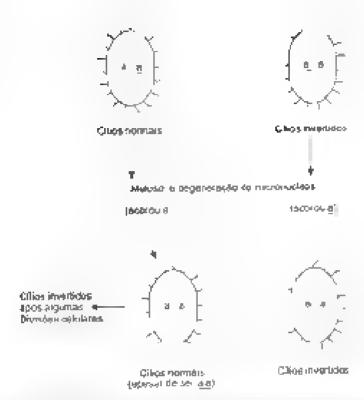


Figure 1.22 Heranga retardisculent in objekteeren. Ados Agosti de as duas ribi natieste lanteste im kruzamento reternio mesuno genori no que est subtimolificamente dis rigis imandoni. As exemplio esta los ilificio me il uno some di lassico i pri duto do gene in resi il undo lo que il ne a comprete a ribilità gi en el divisco resultante. El suè os instronacion descendente do 16, il comi lassicomas allo aprocenta il no revendo:

3, 3, 3, 3 Recombinação em algas

A exemplo dos protozoarios, pesquisas genéticas em algas sác também mudo menos númerosas que em bactérias e tungos. Os principais exemplos de estudos genetiros estão dentro do grupo das algas vendes ou cioráficeas, sendo a especie Chiamytomonis remiterd, a mais litilizada. Ela apresenta um sistema de recombinação, a conjugação, onde dois tipos de renção sexual designados de mise e nitilisão conhecidos quando duas of mas de tipos suxual a opostos se encontram, pode restutar fusão celular ou a ngama, produzindo-se um zigoto diplosde. O moder diploide de mesmo sofre meiose, dando quatro cêmias hapioides divas com um, po de mação sexual e divas com o tipo oposto. A Fig. 3 dispresenta os passos da com ogação nessa aiga. Assum nomo há segregação de 1 lipa air gene do lipo de reação sexual outros genes remossionicos de aigas também apresen om o mesmo tipo de segregação. Em Chiamytomonias podem ser usados meios definidos ou seja de composição simples. Mu antes auxotrof cos, morfolog em e para resistencia a drogas são empregados, o que facilita a anái se genetica.

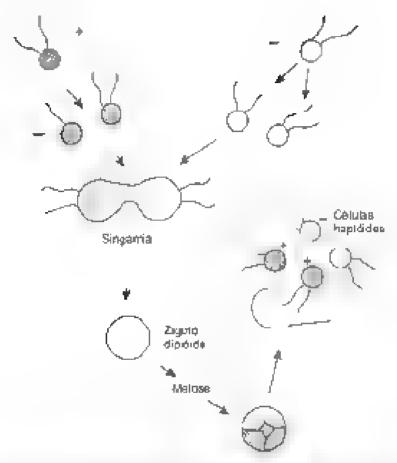


Figura 3.21 — Pisantigação na tigal instructionado residencia. Com asidos coo de mação secua militirem los meminangamas cando um algore dos xos. Por membro quara como las rados xos são termadas se xos duas no hierdado dos como displante.

A l'enética de a gas verdes e rica en exemplos de heranta citoplasmàtica. Algumas dessas algas têm apenas um cloroplasto que contem DNA Assim existem genes numeros e extranut eares ou extra romossómicos que podem ser estudados separadamente. Uches para resistimo a a antibióticos e para fotossimiese estão lucalizados, em algas verdes no DNA dos cloroplastos, lisso torna as algas um atrata o material de estudo de genes localizados em DNA do cloroplasto.

3.4 — Herança extracromossômica em microrganismos

la toram citados sarias vezes neste capítulo que elementos extracromos sónicos e portanta casos de herança extracromossómica, são detectados em microrganismos. Em aigas e protozoários os casos são muito frequentes, tornando-os um materia, apropriado para esse tipo de estudo. Mas e novamente em pactérias e fungos que casos de herança extracromossómica adquirem uma importância toda especial. Alguns deles vão ser citados a seguir.

3 4.1 Plasmideos bacterianos

Ra ter la podem conter elementes ext acom nomicos des grados de placquidose fotos procuem canal dade di se locale relescadentemente do cross seems parteriary on conditioning pur IN. Empire bein mentions the expressioners employed between an east a sobre even in the burst as que es albergam persimenes en artes meios de calcara, o plas máises carngam games due conferent diterembes, a actoristicas gelant, as aos seus haspederros seas características na lesta Iligacas ao en mose, mo bacteríano a na, ser quance a prasocideo se tracorpara a mesmo o qua pode econtra em savo de plasmidos has more onado to et mem sobre algers deles has a sajogação hastoriana, e mesmo o ha ter li ago e envolvide na transdução esper sea que também pode ser como prade um plasmane. Plasquases que performents in the extent year are remained to the experience of the burns. dow delegation make emercentación sele in a sistem como matre como plante. dealers again Algerra for principals plasmedoes bac eranis ilem 1. Fire serão desentos a seguir-

3.4. - Plasmideos R

Promotion Rearingam penes que conferent tenstant à à civetain appeil de la bidones come antible de quimentence sais de metais present authorise for the first rampella or me a vez este due non Japa quantité pastel a se transferent la de resistencia munique à diseasem relbucturas encontracas em parientes una desinteria bacteriant cope sicilises muites outres e sos foram Jeschies em la las partes de munea institution a reses masmidias grande importança do porte da vista medica. La

Ok plasmides v.R. a seme hanca die Elipsdem ein sau grande maioria ser transfer. Esside ama ce il a par loutra, pois tem genes que carregam in tormações para resultransferencia Porem a em disso carregam graes que no fatorism resistency i varies an high assistmospenie, that fetracicl say contactions. The pure was more at the former as so has report said demetals posidos ora a metalir por sumbio Ciprocarismo co resistência condicionação por esses gades e discrenta do da en stempla celor seculçahim ger in genes hate resistancial local advisoring aspectors carrellian in to magery place and ignorate environmental materials and artification on the prein terms and cost against a man it was one has hornage by inches reasonable a sian is appealed do time so they calcalled projets politic rando to ay a siting of mes pal gen in his mer an usus and his constitutions may to the despines has technologia do chief the above to fambone plantations que la right des structa a cultura de ados funte eda le outras agraquires con tell and re-avadence on the proteins of imperiornel apparactions to only a about es our isses componentes uma ex par price tem egrada un

3 4.1 2 - Plasmideos colicinogênicos

Descritis pela primeira vez em É cofe de onde provem seu nome esses plasmideos carregam genes para produção de concinas. Estas são substâncias antimicrobianas de curte espectro que consequem matar inhagens de baccentas da mesora especie ou de especies marto relacionadas. Apos sua desceverta em Elem elas foram lambem constatadas em muitas outras bacterias, dunde es ses plasmideos receberen la ma designação mais gera. La bacterio, donde es ses plasmideos receberen la ma designação mais gera. La bacterio noços os cos agentos amilhacteriamos, de bacteriocinas. Como no caso dos piasmideos R, os plasmideos produtores de bacteriocinas são estados como con com estima em Engenharia Genéfica.

3.4. 3 Plasmideos de Stophylo co cous

Fase genero nacteriano e nocioni plasmideos alguns de grande importancia medica como os piasmidios produtores de periodicase enzima que ma via a penici ma tornando a baciena que i possui resistente alesse antibiotico babe se que asses plasmidios ponem carrogar também putros genes que conferem resistencia a arsenatri arsenito mercuno cobre anociones mechicina entromo cina etc. Nanas copias desses plas nice is pocion existin qui uma mesima ce ula como es plasmidios Rietes fambem causam proclemas pulsoacionas resistences são i requentamente encontradas i sobrevis em de tratamente com os mais diversos antimicrobianos.

3.4 i.4 - Outros tipos de plasmideos

Micros cotros opos de plasmictores a roram descritos, como les que conterem competencia a constormação em algumas bacterias de que dão caracterest, as de produção de acido surfictore, e as relacionados a patogenicidade. Podem ser encontradas ter sues sobre outros tipos de plasmideos, alem dos plasmideos principadas. Para São descritos notassos plasmideos, i plaços, detectados por exemplo por processos entrolem, com una que tão padiçõem aparentemente qualque, dinerença tem, pica pas cera as que tos estas obtantos seres y los elos oram detectadas. O plasmideo 2º de les edu as é un exemplo. Ta noem o DNA mitoconer al com em o e qualque, dino podem ser considerados plasmideos.

A importancia los prasacidees e inques cirase, pala a sobre estreta e el oluçar de un sa especie principamente aqueso, que se bise amiem um grande numero de melos daos para resistir a model cações do mete ambiente. É e caso por exemplo, das bacterias ende e inita e e abridade existente permete que el se sobreve e am aos male di ensus agentes indicionas fiendo extracorrios somica lessa variabilidade não substituir apenas admicha nor as propriedades as ecuras permetindo sua adaptação a ambientes adviendos Methor amos por dor as ser perdid is facilmente e também recaperados por recombinação esses elementos extras remossibilidades is fornecem uma capacidade de rápidas modicida. Cós sinas populações pas especie que os possuem

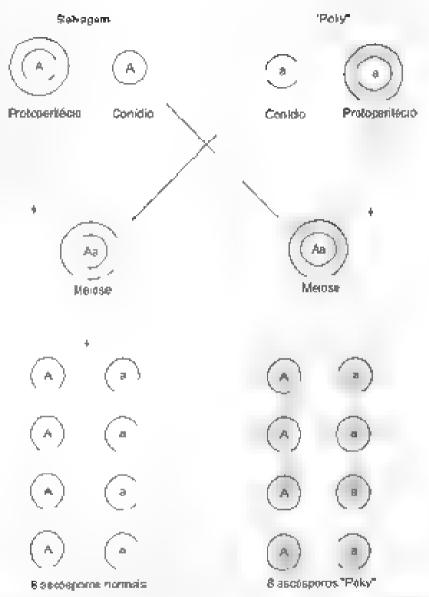


Figure 3.24 — Herança extracromoscomos Phrances, poly of the restrond 1 key Os descendentes subsériblé galas a influyern que tomeco, o clopasma prolopenteuro), independentemente do apu de réação sexual ou de getos actiones

3.4.2 Herança extracromossópsica em fungos

O re-no dos fungos também e rico em exemplos de herança extraciomossóm da qui extranuciear no laso pois esses são militorganismos elicarioticos, dotados de nucleo tipido la miexemplo em lungos filamentosos e putro em le veduras vão ser descritos a seguir. Mais exemplos podem ser encontrados em vánas revisões, livros e traba hos a respecto da herança extranticlear em fungos (1.10.45, 46, 47).

3.4.2 — Colónias 'polo/ em Nesvoepore creses

Minar tes polis personno a a correin ento reduz di quandi comparado con inflagen se sago i cas no asset fese tato de nartar le el berda a sempre que a littragest arotar le clasadar on cilide", sicilio de roccidora de crioquasma e nucleo ao contrario da lin tage ii par i que so la nece cilidera para es descender les clasa na cilidagen que en cilidagen que la se su se cilidagen que la cilidagen que la se se se se se se como com la tas para rolla general de la cilidagen que cilidagen que la se se se se se se caso a organica el si a rolla general que cilidagen que en cilidagen que en cilidagen que la se se caso a organica el si a mutareta el mitos márico. A cilidagen quanda de cilidagen que mos cilidagen que mos finão e a que comece a glande quantidade de citopla ma, ma cinal de mito condinos que vido ser interispo ados aos descendentes. El ma portante que direción a acidar tons casa dos mesmos em um caso de negariça estración mossomica mitocondina.

3 4.2.2 - Colónias "Petite de leveduras

First in Disease diallock of the Sale Environment of the leave a segment time the contribution em mero si uli produzi ursi certa tres cumo a del pupo as de tamanho pero eno instruction of project As a assistance that he for incapacidade de un care segemo por la la sula leração de envirtas respiratorias posseandi um metabolismo anagribico Algumas, ici as petite di segregacio mencellaru norma posegi ir zamentis dei e nas permais com petite prodi zioni più menine il attro pipe con secula si soni il della dell'enclupa normali ci dons, pet ties, a potities, segregal, maist, hittretant, ina maior a dos casos a segregação de construir ment, normai y petito, produz os quatro de gendantes normas y petites, neutros, ou quanticlados yana en rao megacijaras. cheganeou quate, pelifes e tenhum norma, pelifes supposare se Os piglables segregacionary tent a municipo loconzada no es mossomo e portanto. nace, this bright cases. In the area on tal north issumical configuration fem taltation tal de DNA mitocondi la elassor chizadas com celulas normais tem suas micount disability tina is restaure en dan. On suy ressit in peridenamierri di terentesi graus parte de seu DNA in tocondital.

3.4.3 — Cilitenos carulso ertabelecor casos de herança extraoromossômica

O genet, sta muchibasiogista e lodos os que trabalham e mimicrorga nismos desenvectar sem sie alem se para discusar entre características peneticas e aquetas qui são e má construis as apenas por loda, ses de ambiente da construis para la seus as apenas por loda, ses de ambiente de concesto atendos para se as seus acueta ativas geneta a são regulas ser guara entre ocurrencia de concessorar es para la social entre como se concessorar en esta para a significar as social munto maios, tas conque as estrações como osservicas. Embo a alta cista. Luade em a ana

grade to the process is seen to all order to the seen one other and encinates total a strain and the firm of the firm subjects and a selection of the most grant with the most secretary and the a parties what is not professional and all a no all and forms and a parties to be a supple to the supple to the term of the court in the supple to t a feat and a beginning to the mean and the section of the proofs were a sale and a second or second than the artist product of 1975 mante discreption that are partial as a series of the second terms mathematic that we arrived by at a court on a factorise in the secthe angles of the second of the property of the transfer tests of the Madeland Internal distance in the Internal in the Internal including gar a major and the space of the state of the state of has believing a treatment of the annual to be property of the treatment and there is a series of the contract of the contract of the contract of the and of the second supplied to the first terms of the second secon و المن المن المن المناوس و المناول المناول المناول و المناول ا me to a transfer at the same of the party of the same of the same of purposes sage of became on more to ever at a most by I a dealer of his particular of a some agree will are a govern a final state of the second state of the second sec the state of the term to be a second to the state of the et tarbuch spesifica with upstrage planting appearance and produce an engine Party and compression are an property of the second section of the second one washed the eathers have been paid to ray a real to constitute of the service has been been been as the bound have be talk to the more of the large to the day to the day and the make the given to be so an appear we atake also amendons as I be a state of the transfer of the second o all of people for the state of the few

3.5 - Canaidarações finale

It proves the most party of the control of the cont

grande parte un izam microrganismos como hospedeiros de genes ou DNAs de microrganismos como vetores para transferência de genes de uma espécie para nutra. Fina mente, la introdução cada vez mais frequente de espécies microbianas em processos biotecnológicos tornam o estudo da Genética de Microrganismos fundamenta, para que pussam ser rea izados programas de melhoramento genético cada vez mais eficazes nessas especies.

Referências bibliográficas

- cli AZENEDO. Li Genética de microrganismos. Goiania Edi iniversidade Federal de Guias, 1998
- (2 AZENEGO. I (Courd). Genética de microrgan smos em biorecnolog a e engenbaria genética Piracicaba. Ed. FEALQ, 1985.
- (3' COSTA S.O.P. (Coard.). Conflict molecular e de microrganismos. São Paulo. Mande 1987
- 4 HENRIQUES A P. QUEROI. C B. Bases moteri ares da mutação in COSTA. S.O.F (Coord., Genética motecular e de microrganismos. São Pasalo, Manote, 1987 p. 17-34.
- (5) DEMEREC M. ADELBERG, F.A. HARTMAN P.H. A proposal for a uniform no-mendiate in bacteria, generics. Geographics v. 54, p.61-76, 1966
- (6 LEDERBERG LEDERBERG 6 M. Replica plating and indirect selection of bacterie. mutants. Journal of Bacterlosogy v 63, p.399-466, 1952
- 17) SILVEIRA W.D. AZEVI DO L. Dirrivo on diauxolophic mutants from Metarhi zaum arosophiae by the filtration technique. Revista Brazilla, raide Conét de viñ pili. 8, 1984
- El AZEVEDO. J.I. Tópicos de genética os crobiana e melecular. Conética de Procertotos. Piracicaba. Publ. Instituto de Genética, 1977. v.II
- (9) AZEVEDO. . . COSTA N.O.P. Exercicios práticos de genética. São Callo, Cas. F.d. Nacional, 1973.
 - (0) BAINBRIDGE BW Genetics of murobes Glasgow Blankie 980.
 - t → BURNETT H Mycogenetics, Londrey, John Wiley & Sons 1925.
- 2) PINCHAM J.R.S. DAY P.R. RADFORD A Fungal genetics. Oxford Blackwelle, 979
 - 1.0 STRR KBERGER, W. W. Genetics, Nova York, MacMillan, 1985.
- 14" Az EVEDO J. Genética de microrgarismos um BECAK, W. FROTA PESSOA O. Counda. Conética médica Sao Paulo, Sarvier 913, p.4-455
- (5) Le RIA S.E. DELBRUCK E of Maintain of bacteria from max sensitivity to varus tesistance Genetics, v 28, p.491 511 1943
- 6) NEWLYMBE, H.B. Oug not hactorial variants Nature London, v. [64, p. 150-151]
- (17) A PERY OF MAC LEOD, C.M. McCARTY M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of Pneumococcal types **numai Experimental Medicine, v.** 79, p.137-158, 194-1
- at LEDERBERG, I & TATUM $_{\rm L}$ I. Genetic recombination in Exphericipa co., Nature, Londres, τ 158, p.558, 1946
- 1917 NIDER N.D. EDERBERG I German exchange in Samonella. Journal of Sactori-6.0gg v.64. p.679-699, 1952.

(70) HAREN W. The marchamann of game recombination in Facherich and Cold Spring Harbor Symptoms Quantitative Biology v. H. p. 5-93 (45)

2 SOU ZA E C. Pasenches bacterianos la C. 257 à 54 P. (Com.). Genética mules estate de microganismos. Sá. Paulo, Manole. 987 p. 27. 289

(2.) At OB F. MCNOD. Cometic regulators of mechanisms in the synchesis of protein formal of Molecular Biology. - p.3. 2-35s, 1%s.

TWO GRIFF THE F. The signiful arise of pneumosoccas types (pnema) of Higginste A 27 p.113-159, 1926

24 MURSE M. FUERBER, E.M., FORBERG. That alluctions is Exchanging and K12 Genetics, vol.1, p., 42-144, 1956.

25 McCLINTOX K B The angle and behaviour a mutable loc in maze Procedings of National Academy of Science Washington. 56 p. 44-155. 150

Chi AZEVI KI II ROPER A Mitotic concontornab or Asper title indicate. Sucrescue and transposable genetic changes. Constitut Research, cambridge in private 197

27: AZES E NO | L. Novem sistemas de recombinação em microsganismos. D Biologico. 5 50 p. 5-25. 900

24. N.E.W. ON SMIL Elementos generales non en en mora tela en COMTA NO P. P. CONTA NO P. P. CONTA NO P. COMTA NO P. CONTA NO P

composition to the production of the production

pendacing strain or topics are night Review Brasileira de Genética. A provider va

pathogenic furgus Abrarbs um an operar Kevipia Brasilena de Genéralo. 1 y 26 2°

2 PACCY A SITIRE, TS | D. & A.Z. S. FOO | L. Pareses in the inflammation of the Pareses and the inflammation of the Pareses and the Pareses an

ord Genética molecular e de microrgan imper hau Paulo Maroje 1947 p 343-44

4 LZEV XC — I sincas atilizadas noi processos bulternológi os envol inco unpos lo si NARCSA SBSE VIII ha Salterra 1995. Anala Secteura e Branca e de Benanca 1995 p. 77-87

(35) BALL, C. Protoplast usion in comercially important microorganisms. Ire L.S. Nisbett & D.J. Winstanley (Eds. Bioactive Microbial Products vol 2, Nova York, Academic Press, 1983, p. 19-32

46: FRER DV F FERFNAZY L Frank Fungal protoplanta Nova York, Marcel Dok. ker, 1985

17 CARRAC AZEVEDO I I NO 195 KY CAMPBEL E MERICAL LOS CONsers tusion products are many schological success of difference of a large Series and the ground provide Revision Bravilleian de Conétical V.5, p.221-226, 1982

AL PUZZINANI KINNER A A INZENTIKO I Técnicas eletroforéticas para separação de reumomoros de microrgamismos Puzacoudos IIII Q 1989

10" A/FLEX) PIZZ RAN IKI PINER A A Me horomorto de hanços de introfesta na agricultura in Milet. En inclue A C. C. Coord & Recursos gracticos e spelholamento: mi crospaniamos ing ariona. Ed PMBRAPA p. 323-356, 2002

10) c. WIN B Games Will Porto Alegas, Artified Fo. 20.

- 4 HERSHEY A.P. ROTMA v. R. Genelic recombination between host-range and plaque type mutants to be a chopkage in single paccertal cross Generals v. 34, p.44-71, 1949.
- 4.) AZEVEDO J.J. Engenhana genraca no controle biológico de assetas. A ALVES S 8 (4 cord. Controle microbiano de asetos Pizacicaba FFA Q 996
- (4 : AZEVEDO FUNCARO MIHP VIETRA M. C. Transgenicos e evolu-ão diregida História, dência e saúde-Mangu nhos V 7 p. 451 464 2000.
- (44) PERLIN M.H. Plasmids other than Film STRE PS, You. ASBIN R.E. (Edis.), Modern microbial genetics. Nova York, ABIn Hass. 1991, p. 23-55
 - 45 JINKS a Extructromosomal inheritance New green Premise all 1964
- 46' ROSATO Y B. AZEMEDO J. L. Acompact. ariant of evtoplasmane origin in Aspenyilla restations. Transactions of the Buttath Mycological Sec. ety. v.75, p. 113-315, 1980.
- 47: ROSATO N.B. AZEVADO. National instability of a compact mutant of Aspergative statement. Revista Brasileira de Genética v. 0. p.425-433 | 987
- (48) AZEVERO. I. Altered instability due to genetic changes in a duplication strain of Aspergites indictors. Genetical Research, Cambridge, v 26, p. 45-61. 475
- (49) BALL C AZ VEDO L senetz natability in parasexual funge in MAC 2004ALD. K of fed. Second internacional Symposium of Genetic of andustria. Microorganisms. Nova York, Academic Press, 976 p.243-231
- 50) NEWMEYER D. TAYLOR, C.Y. A pericetaric inversion in Neurospaya with anstable duplication progeny. **Cenetics** 146 p. 777 (791) 1967



ELEMENTOS DE ENGENHARIA GENÉTICA

Ana Clara G. Schenberg

4.1 Introdução

O surg mento da Engenharia Cenetica, na década de 70, foi uma de correncia natura, da grande quantidade de conhecimentos que y nham se acumu ando na área de Biologia Molecular, envo vendo principalmente as bacic las e seus villus. Entretanto, em contraste com os demais progressos vez-ficaciós nesta án a lo advento da Engenhama Genetica teve um impacto iorm dável sobre a Brotechología. Helic homem pode intervir diretamente soore os comendos da vida, é possível programar geneticamente os organismos y vos não apenas para a superprodução de algum metabolito mas, a nda, de substâncias que so são normaimente produzidas por outros organ smos. Pela faci idade de manipulação que proporcionam no que rorganismos toram os primeiros a setem emprogados como kospedeiros da informação genética heteróloga. Em principio, qualquer proteina pode assim vir a ser prod izida em termentaçãos industriais desde que o gene que a nodifica seja enxertado num microrganismo, ou em outras pala ras, clonado, e passe a ser por ele expressado. De crucial importância é a possibilidade que a nova tecnologia trouxe de amplificar sequencias ind « duais de DNA la cionagem de um dado fragmento de UNA perm te que partindo-se de apenas uma molecula, sejam produzidas quamidades ilimitadas desta mesma in seria a. Depois que um fragmento de DNA tiver sido assim iso ado e ampinicado las suas propriedades podem ser caracterizadas e a sua sequencia de que estideos determ axida com precisão, o que proporcionos um progresso entiginoso do connecimente básico. Por outro iadin a relevância biotecnologica decorre do tato de que a sintese de proteinas estrangeiras pelos microrganismos leva a uma importante redução dos custos de produção. Para citar apenas um exemthe paper of the second second

A Property of the second secon

For a registration of the same and a series of the same of to you to defer you to be a parable over the first or the same a second of F A to b a great to all all to draw بعدده ويباك ويعده احداد كالمتعدد والمتعدد والم a report of an expension of who was a waster agent each agency that it is we are required to be a second of the second of For the age of the contract of No best ages of a management of the second , where you have a great to be a mark and a state of a property of the state of th the first than the property of the state of and a few seconds to see the best of the few seconds of the second seconds. per thank to be the first than the first term of a programme a second and a second as principal Discours with the property of the errenge a representation na célula hospedeira

passos para uma experiência desse tipo

en manda per a la managa di territoria de de la fina de la manda d

- 2 Em elemento transportador de genes, e vétor genético, que so sor multiplicado pera célula hospedeira, poss bilitara que o gene estrangono que transporta também o seja
- 3) Um meio de introduzir o vetor numa célula viva capaz de mult pirca-lo,
- 4) Lima mane ra de selecionar identre i ma grande população de células, apenas aquelas que tiverem otetivamento incorporado o DNA recombinante.

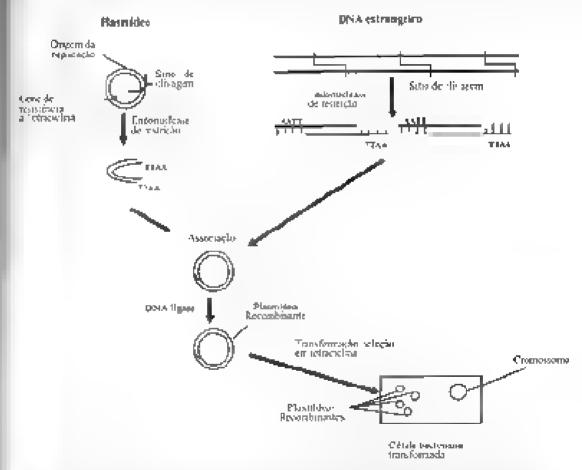


Figure 4.1 is equemogenal de la resperimente de linguistica de debit la bisación de entare o comerción de debit la due construir o letter entrado por l'atamento com uma industrior hasendo inscribir com para a dua spresenta um una discousiste la construir de comerción de la comerción de

4.2 – Enzimes de restrição: as tesouras moleculares que cortam a molécula de DNA em pentos específicos

A construção de DNA recombinante requer que seja possiblei cilitar au mole silas de DNA de modo pro uso e rentro dos sel Ason de ser necessário ordar o setor nom uma ponta especido conde sera (mendo a DNA estrangeiro e imprescindis el que fosts as molecia as do cetor seram contadas esatamente na mesma pleis à l'acima quentomente na se pode realizar esse tipo de construido atrases da cinagem alea una do DNA disperor Na serdade a Engenharia Cenet. Las sertires su possibilidados abesta de considera especia de esta mas as enconquier usos de restrição que rendem o Prem. Nibel a W. Arber H. Smith e D. Nathans em 1978.

A diser ação i ista de fe io, ne io de resilição cida indicte ta cerca de 10 arionalistes por Lukia e Heistas. Que has amidator to a capacidade que algumas capas da bacier a £ infrapresentam de se porteger da intecção por bacteriotago, se a nas palasta conservada reside de detera correcte na oriedação por a nacteria de uma incrima capaz de degradar o DSA y ra invasior. O DSA propris da bacter a fina protegidi lo viataque pela enzima de relitição proque ao meismo tempo em que produz a enzima de relitição, a bactira também produz ama enzima de mistra ação pela aça ida qualidada, a bactira também produz ama maisma maide mistra ação pela aça ida qualidada a dos a algumas dos baces que compósma a sequencia de LOSA que e recibilida a algumas dos baces que compósma a sequencia de LOSA que e recibilida a algumas dos baces que compósma a sequencia de LOSA que e recibilida dos a seas mais de restrição em que a actima de modifica acora contrata dos a for ser montra da pela actima do restrição. No impara ama ceterra no talescente a selema de restrição ensenta a modifica do contratos portidos de modifica se em sobridos a modifica dos contratos portidos de modifica se em contrata de modifica que contratos portidos de modifica se em contrata de modifica que contratos portidos de modifica se em contratos de modifica de contratos portidos de modifica se em contratos de modifica de contratos portidos de modifica de contratos portidos de modifica em contratos de modifica de contratos portidos de modifica de modifica de modifica de contratos portidos de modifica de modifica de contratos portidos de modifica de modifica de modifica de contratos portidos de modifica de modi

As eld-maxlement de lest los social etizadas por martes, serás lo das las especies de facter as solido con una antal mesma especie bação apra produz. Las de una envirta da resilição mais de una envirta da resilição mais de envirtadas em organismos executivo cos fiscal las solido envirtadas em organismos executivo cos fiscal las solido envirtadas em organismos executivo cos fiscal las solido envirtadas em organismos executivo algentarios en una ligar. As envirtada de restrição de figura facilitada en entra en organismos en entra da acelegação pero mais executiva de restrição de figurados en acelegações en encumas de restrição de figuradas en executivos em encumas de restrição estadora, a mois entra entra de restrição de figurados de figurados facalmos em encumas de restrição estadora, a mois referendo aquelas de figurados facalmos em encumas de restrição estadora, a mois referendo aquelas de figurados.

As environs de restuça i sa l'el discessor not hactouse i cal endoracteases que recorbe em sequent as especificas de na feotides sia mojeça a de DNA e con antias dans cadicias de DNA nom pomo dentre desta sequencia. Uma deserminada ema ma de restriça i na citadisar a coemicida du na rita apenas considerencimos aquala secuência par icular que reconhece. É essa espect for dedelegate for the entrinas de restrição inscrumentos (ao importantes e n.C. qui hacia conseiva. Assiri por exemplo a societa de restrição chantada forte produzida pero conseiva forte a conseiva for a c. DNA semente quando e se nota a ma seque tota de forta dos conseivas forte for se contra c. DNA quanta entrestrição finall, producida pera a resma la terra se contra c. DNA quanta entretor como seque o la lieixa, octeoridada C. M.C. For A da c. la da se como se contra do estrição re como e sequencia a resumandos comos mas la la transferir a por nasque restrição re como escapações ao casa accomados.

Admitted que os 4 o crentes nucleo dess ocorram com a mesma ne a renou ac kingo aumo escata de a NA cabo a se que ma cada sequencia de 1 pares de bases (opi scorra em media a ada 156 hp. 15 — 2560 enquanto ama do filipido com a a cada 4 em hp da molei, ua finiteranto como a distriba acide sittos de recimbio mento nao e replicar omo determinada regulas do NA pode se contada mios na menos frequentemente do que a media esta recisa Ossa recitada mios na menos frequentemente do que a media esta recisa Ossa recitada mios na menos frequentemente do que a media esta recisa Ossa recitada mios na menos frequentemente do que a media esta recisa Ossa recitada mios na menos que pela pesta com uma encoma de estricido posteda acido e de ser separad se unsidos ocitas, non base no se a tamanho, através de electroforese e nigel de agartose ou de polacrilamida. A partir desses dados, é possível construir o que se chama de mapa de restrição, o que envolva a determinaça da sença le da cinentação de cada lingua e cona moiécula de DNA origina).

As sequencias de reconhecimento no DNA apresentam uma sincilia rollaciona. Em gera, a sequencia de reconhecimento o custifici um palindrom est, e as a tras com a misma secución a se uma cilidada esquenda para a direita sa a unital da direita para a esquendo, qui em termos ce DNA se ambas são odos no direição 5 pera si ou ambas são idas no direição 5 pera si ou ambas são idas no direição 5 pera si ou ambas são idas no direição 5 pera si ou ambas são idas no direição 5 pera si ou ambas são idas no direição estas a presentadas na Tabela 4.

A prime a en ima de restricate ter isolada em 1971, le holo la sello effecien mais do 2.500, sinadas a par inde ama lasta gama de especies bacilita anas compreendende 2.50 di si entes segia no las do reconhecimiento. Em muitos casos diales da meis ena mais de restrição, lotos ententes do diferentes participas, reconhecimia mesma sequencia de 100 A lessas enzimas são chamadas de isolesquiziomento. El de enconhomise el sportiveiro comercia mente aprilos madamente. Lo diferentes encorporas de restrição.

If the tado for corte per esset tils nerve seed of a reserve de restrição da enzimas presentam en atamento no mondo da see norma a terrecordo amento o mondo a asima fuelle da Anal see Tab. 4. Lor gir indo aque se chanca de extremidade cega a abrupta nos ragmentos de DNA resulandos da sua ação se ata to lovo um numero considera e de enzimas de restrição orda a dopta tita da maneira a girar as caudade con a sinos tragmentos o no tantes.

remain de l'escrição. Estão aproxontivada aguntes endonuciesces de restrición da sequência en DNA que reconhecem la FIG e Cirepresentam os nucleat dessida adenina i mina guarante a lisma respesar variente. As fechas, adicam o porto em que a enzima timo lado uma das nos centro da sequenda de lecornecio the to Holdingue is insulated for 6 semigrerums guidest the display

ORGANISMO PRODUTOR	NOME DA ENZIMA	SEQUÊNCIA DE RECONHECIMENTO	RELEVAN IES
Escherolpa cele	EcoR	5 G-AATTC 9 3' CTAATG, 5	Sequência palindrômica de 6 nortontideos. O cor- te geza extremidades coe- sivas
	EcoRII	succent of a	Sequência não paundró mira. O corte gera extre- midades coesivas.
Proteus tailguets	Poulf	5 CAGICTG 3	O corte gera extremida- des obsuptas ou sugas
Arthrobacter luteus	AlvI	5 A G (C T 3 5 T C (G A 5	Sequencia de a nacleoti- deos Extremidades ce- gas
Arrahzena varrahirs	402	5 .C4Py C GPu G. 3' 3' .G Pv G C Py1C 5	Quatquer purina (Pu) ou primidina Pvi pode es- ar presente
Norordiannindiscaniarum	Nie	\$.0000 0000003 900 00 19005	Sequentia de 8 núcleote deix, pouco tregente no DNA de mamíteros
Providencia stuarii	Psil	S CTGC A+G T T CTACCTC 5	Pagremidades coesivas com expensión de l'ica sim- ples em 3
Bu allus stearotherampho for E7	Be#T.	5 MAGINACE 3 CCANTG [†] GUS	Onde N pode ser qual- quer purma ou pirmidi- na. Uma das raras enco- mas que produz exten- sors de mais de 4 bases.

Iliso ocerre porque ra a enzimas não cortam às duas titas da molécula de DNA. topo a topo, mas contam de un modo "desencontrado" dentro da seg ência de reconhecimento, o que prinduz extremidades de corte dotadas de custas sequências de fita simples, complementares entre su como esta mostrado para o caso da enzima Eco RI na Erg 4.2.

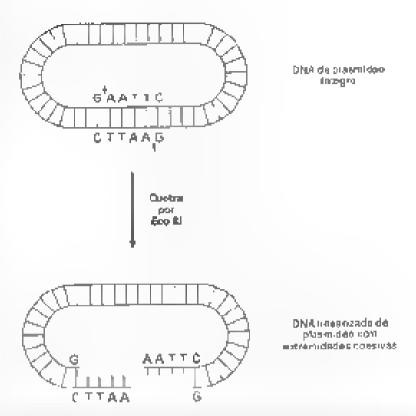


Figure 4.2 genura se Displayed an union de restrição - - - Ri - Iniz modera do DNA encisor de displa Ri - Romando apenas uma requesto ade exconhecemento para a indónicidade de restrição 6.0 RI, após tieta hemo com esta enguna para convertida numa protectiva near com extremidades consistas do Tipo Pro Ri

Assum por menor que seja a semelhança entre as sequências de murleoi deco de duos motoculas de DNA, a enz ma de restrição saberá encontrá-ia e
cortará ambas as moleculas neste pomio. Fragmentos originados a partir de
mo éculas de DNA diferentes, porém digeridas pela mesma enzima de restrição, quando dotados de extremidades coes vas, não se associar com grande facilidade através da complementaridade de sequência, como mostrado
na Fig. 4.1

Todas as covintas de restrição of vam a ligação tosfodiéster deixando grupus 5 losfato 5 P) e 3 hidroxila (3) OH nos regimentos resultantes que constituem exatamente o substrato da enzima DNA ligase. Assim na fregmentos gerados por ação do uma enzimo do restrição poderão ser lacimente reunidos atraves de ligação covarente, por adição da DNA ligase que catalista a formação de novas ligações tosrodiéster. Também é possive realizar a ligação entre fregmentos de DNA dotados de extrem dades abruptas (como por exemplo aqueias geradas pela digestão com a enzima de restrição Paull), empregando se a DNA gase produz da por Elicatina de restrição Paull), empregando se a DNA gase produz da por Elicatina de pelo bacteriólago. T4 O modi de ação da DNA ligase de Elicatina en electoria pelo bacteriólago. T4 O modi de ação da DNA ligase de Elicatina en electoria da DNA ligase de Elicatina el con electoria da DNA ligase de Elicatina en electoria da DNA ligase de Elicatina electoria electoria da DNA ligase de Elicatina electoria de DNA ligase de Elicatina electoria da DNA

da DNA reason la El via mart, sema bien es. Cremed, en relanta ju entre father are to be and a DNA lighted at the NAD and T4 moner ATP

Special de la Etação que se obtem para o chapa de agação quando se sate search on the community of the following parameters as a product of \$1.50 a soft in early parties on the experience are been experienced as the emperature from a partie experience planper le transaction. Il la marchine de la financier per colonie de la colonie de transaction de la colonie de la co perconductor is not next en que a encida. SA liquer dad nonacia a sectional general matter also the telefoliate so the fire lateral aboves in the may assess a summer the seminar his according bump marks. a Newton en or how rate and também as well-amore in law better has interest their and the symptoms did NA extrapost to get a gram a greature is discours outliers, and so that continuously has been discoursed to an high discourse the countries of the same care each or a reason in the discussion of the big graging in the present of each of a section of the the qualifornium of that it extrem dusts to do not be the regular to our many one in an in Administrative medial fronte me dides. Fir 3 the Soom of trib is hipper as 5 th S. serom on imbinative fore to postation in the mean condition of the college as a section of a secdesignation of the every agreement agreement are from taken with deplaymeter regulata as Nameta a sobara um interarcam y alia tambonic pedera scotter gação entre as externidados y Olfost DN filos Cange in the many as model than a let all D. fetting en agaz de tigal at laninto a property for the secretical delimitation and a superior of the analytic engine of plans main recognisation some ling could be discovered that as a since has escentificaçãos. Estas o preferentes a material de destres de la compansa del compansa de la compansa del compansa de la compansa del compansa de la compansa del compansa de la compansa de la compansa de la compansa del compansa del compansa de la compansa del co purcadas mais adiante

4.3 - Vetures geneticos, as moléculas de DNA que resculam a propagação dos fragmentes de DNA de intereses

Limited to grow the distribution of a contract of the contract a mean object ground in Nair Stangards arm by less it inspects designed a seal from the program dominate of the personal hardwords that I with the law for I will be A softain. protein white a transfer in a set that appropriate and common of a be applicable to the sandy a sub-routing lague, which there are news rei. Nobreda il delle tea que il NA de ce il preve ce cabia ci empregnatani differ manuscript of home finite partitions as payment page 1. As extreme to twee south of richter's hard each the entermediate confirm in element is expetic is extract massiving a task of many as more to since had be realized a good price where there is not the finder new discrete about Exemplar a Genetica serve to more abilities of an exemplar a decision of the said terranos se mostraram lapazos de leprodução apos a ada ao de seguençais de UNA estrançeiras ao seu genoma.

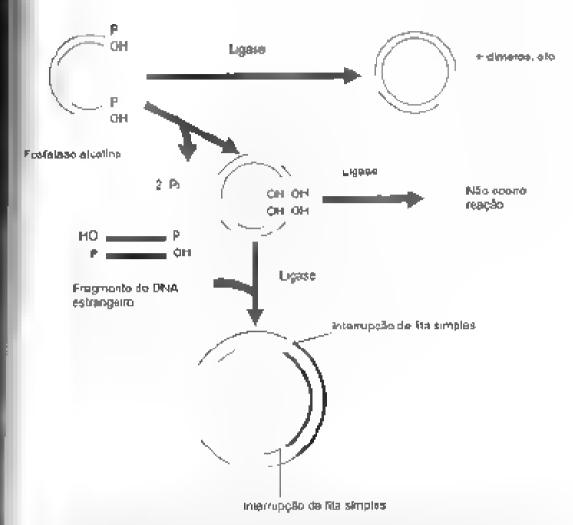


Figure 4.3 Desiration ução no vetor. Para evitar que se moir i unze sens nemburas escrição de PRVA estrange do pONA do vasem ou incomesso o primeiramente submicisdo a ação nueval na disease alvan acuante: de sei posso y primeira que agreeira de Ohio estrangeiro e a utilho gare.

Para que o DNA recombinante possa perpetuar-se entre os descendentes da célula viva que o recebeu une almente ou, em outras palavias, para que o DNA recombinanto possa ser monado, é preciso que o sistema encimético de sintese de DNA (processo de replicação do DNA) desta célula reconheça o novo DNA. Para tanto, é necessária a presença, no velor de uma sequencia correspondente a uma prigem de replicação compatível com o sis ema de sintese de DNA da cércia hospedeira. Plasm fue os e bacterióragos comém tais on gens de replicação e apresentam portanto replicação autonoma independente do cromossomo da cércia. Sendo replicados norma mente pora célula hospe delra, haverá cópias de tais replicans em rodas as ce cias do clone que esta ce lum nã or givar ao fim de sucessivas civisoes.

In satisfy the paragraph of an analysis of an analysis of the property of the analysis of the paragraph of t

I prove the assent and mingentaration of the opposite theory of the specific and the relation to the specific and particular to the resistent and the state of th

A partir division of a ratirial de sacte de tre maner est detinadischools praymely a manading radio paraway a company on the pa-Page D. C. nate of the self-service page of the same place of the same proportion potent for the sign is the distribution of a partir de tracand history to extend to a first of the property of the first the first to the first t was a girm to tell as to provide they are desit. The property desiparty of the home the de is manager pale a manager applications A right in a latter point pale it de la reguleron la lattera a la final a la right constitution that are the lateral decimal with court a fet of field deto be designed a restal long of an object, to go the left that the springer par-I have not excluded the mine whom a final behavior after the distribution. plantale derila introduction accordiona aprila a la datença si en the engine decity and the process for 6 of 2 per related the appropriate Demand and reside to regard the agreement of the same terms of the agreement of the same terms. to line capterials to set in the configuration to parallelection percents in the bracker again say qual a toader conver de la distenmarcadores.

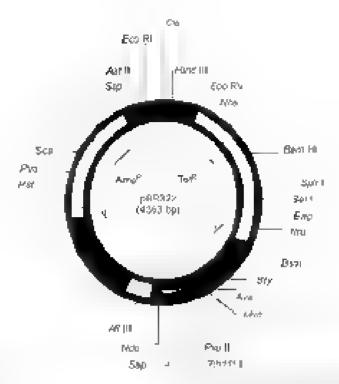


Figure 4.4 Respectes p883.2) Motificate prouter de DNA de la laborator informe indonés is 40.00 de la germana adorse 4.1 la laborator propriores a la 10-adril ellos la laborator de laborator de la laborator de la laborator de lal

Como se pode libservar pela Fig. 4.4. sc. pátizarmus y s.1.6 Psri para a insercit do Diva estrangeiro, rigene Amiji mara mativad le consequentemente. a nactéria transcormada por este plasmineo recomomente ficara resistente apanas à retraciciona, porém continuará senso el a ampie lina, fenótipo Amp. Tet^a Como as equias não transcormadas tem tenétipo Amp. Tet, surá presive disinguir de mediate, nom ceste em piaca de Petri (busta semear as inculas sobre mero completo ad monado do antibiotico, las celulas não iransformadas das ciulas transformadas pete plasmideo recombinante e la nda ma s importante. duque as transformadas por om piasmideo na viecombinante, su seja, em que não occurrou osorque do tragmento estrange to Essas altimas serac resistentes los dors ant hioticos. Amp^{e T}et¹). A possibilidade do talima islação, discretonal acorretando, los fenótipos facilmente reconhecia el que resulta da presença de dois genes de resistencia contendo sittos de cionagem diferences, lez do pBR i22 am instrumento extremamente atti em Engunharia Genetica. Postenimmente foram construidos plasmideos amda mais aperleigoados para desempenha o paper de vetores de F em Assem por exemplo o plasmideo pUC 18 contem um grande numero de sit os unicos para diterentes enzimas de

If all you likely to affective become a ring also give the determinated also policises have a process of a service and a service

or outs. In the lost on taining of some of advances to many decisions the part because one regard to have read a man at reads once to be I say apply may program on a movemble of the following months can make our historials. person provided was to secure separated to sear all relations to the formula section of the Notice of the Contract Contrac each or a residenced featreta to be speaking a to 6, de tremains and a I Not give we force, a course of give or product where you had a situation from to the the same of the 1996 of the first territorial to the property of the pr tem accommission will decrease a management of a parage for the performence of the companies to a second to the organized the property of the companies of cleant also aftered servicingly digensimal differentiage and dark display by fathering to be the probability of the property of the prop many people and in the rest of the first and the state of aprillant an action to the DNA command was a same to distribute para single of a grant or personal section of the section personal sections. was beginned that he color for the first he contact group page on higher the cotransfer to feeter on get to have, the later of page of page of persons a grant appear to I a more than I expressed in the second section of the history of per policing with a standard of the NA report to the area of the most decision that course care on the position of the same matches are a special a thirthe at the first and the feet of the second of the first and an area to spirit and zando plasmideos

A manufacturary of agency is the expected to be expected to be expected. In the tentre of the form to the best for it goes to be and we have have a property of the expected to the party of the party o

the time and tagar delt manho impose a pera cabeca, la particula mas petros tem que seja emplecionale dispersorada uma quanticació multimo. Il 1. Nestrongero mil 45 chi coma cer que tiser militares in praticamente a cita, a la dispersorada que o 125 à node ser acisada em planta de mas de lago que san ricino mais estas el pormito del como los militares por pariodos de lago que san ricino mais estas el pormito del cita de la combida e un tilen otes hacter suspis parente, sua cienta de logo a escipilidad ambida e un tilen otes hacter suspis parente, sua cienta de logo a escipilidad capitale san digitar que para el producto del lago escipitad de la combida e un tilen otes hacter suspis parente, segui ades de las escipitad de litto amicina insidia de man placque generica. Escim por escripto el segui a minimo acita de man placque generica. Escim por escripto el segui a minimo acita el para de man placque generica. Escim por escripto el segui a minimo acita el 25 à de fila al succi, a como se un accasado.

No asolde region since quartificate continuent selagions process plas in the patterns of one per ecomple of hasmadeo de 2em da les edo a successor si com e qual se obtes e a origina de reprilação para a instrução do maioria dos selores da existina Para do recipio ação para a prepara se circo como setorios te concigira com electorio do la distribuida teros e de insetos.

Tamping for moment a los cetares pente ou hitercoma a que content rigero de tipil aça le manadones de selector, importente im 1 les sitemas hispochimies i terentes. Na verdade la minor a dis vetiros curstro fos pala i receptos cello is quantotado consideros en etiros brunco ma l'espace de transfermar unito a cella caca infica em sur dan quante a baste ia filicado a espaciole penque per fore due sopio aprovadación de termo legales de consideros hispochimies. Assum por exemplos en bora a los estiralembentes estados en la considera de considera en la considera con artificars. Inclusivos famanos quantes el considera con grando face que el considera con grando face que el considera con grando face que el quando se utiliza um vetor bifunciona.

Chand so trability one governas de escar tos sopo ares e recessoro chemor ragmentes giances de DNA Tara a modar la sitragmentes di de sensidi tos um priespes, de paspillos de usa fala chamado NAC Yeast Articles Chiminosome, que e apar de acerar notribes de 31 laboralisma di sezes ma cDNA di que tecniam os prasmitisses partirilares ONA Contiem teches es entre il sode am servadores combinar es gentialità materiales contientes 2 la cineras alors dos genes man actes si e e portable materiale estas ellapses il inserças de tragmentes grandes.

Em neum si sale as segundos as a traferisticas que fese ter o plasmideo para se la 1-adocumenta for de cloragon.

a) Ter barko peso molecular

Permite que o vetor seja facilmente isolade intacto

 b) Apresentar pelo menos um si lo unico para uma determinada: enzima de restrição istito de clonagem).

Permite que o veto seja clivado num só ponto, onde será inserido o DNA est angelho. Evidentemente, a presença de vários sítios úniços para diferentes enzimas de restrição e altamente desejave.

c) Ser portador de uma origem de replicação compative, com o sistema hospedoro.

Permute que o vetor se perpetue entre a descendência da cétula inicia mente transformada, originando um clone molecular

di Conter pelo menos um gene marcador.

Perm te a se eção dos cionos transformantes dontre um grande número de cércias submendas ao processo de transformação

o) Tor controle relaxado de replicação

Permite que o DNA do plasmídeo seja amp ificado, possibili ando a obtenção de quantidades ainda mais significa was do gene estangeiro.

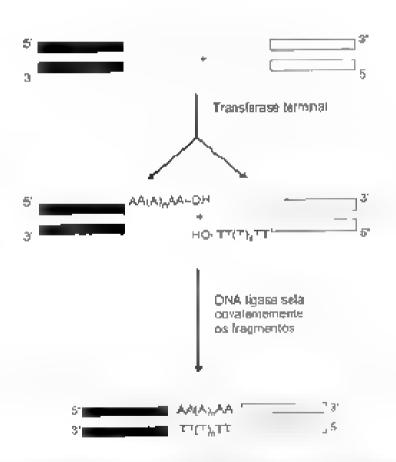
f) Não ser um plasmideo conjugativo.

Trata-se do uma medida de segurança i sando evitar a disseminação do DNA recombinanto fora do laboratorio

4.4 Construção da molécula de DNA recombinante: diferentes estratégias

Ha casos em que não o possível empregar enzimas de les rição para a clonagem. Il principal problema advém do fato de que pode haver sitios suscetiveis à ação da enzima dentro da seqüência gêmica que se quer clonar sendo portanto grande a probabilidade de se incorrer na inativação do gene. Para contornar esse problema, procede-se à fragmentação mecânica do DNA, que gera quebras ao aças, garantindo que pelo nichos algumas das moléculas não sejam quebradas dentro do gene de interesse. Essa coleção de fragmenios aie atorios e mais representativa do gene de interesse. Essa coleção de fragmenios aie atorios e mais representativa do general de essa abordagem foi portanto bastante utilizada para a ionstrução de bibliotecas genômicas dos mais diverso organismos. Enceta no, não é evidentemente possive objet extremidades co estivas através desse procedimento. Alem aisso, o emprego, seja de genes sintéticos, seja do ¿DNA (veriad anto la ampouco fornece extremidades coestivas

Nesses casos luma alternativa consisie no emprego da enzima transferase termina. Diferentemente das demais DNA polimerases la transferase terTal. encontrada em tuno de viteia. Jem a capacidade de adicionar nue cobactiva às excremidades 3 Octidas cadenas de DNA sem necessitar de uma fita. DNA-multae Essa coz ma tos portanto mui to utilizada em Engenhar a Cesta de Por esse procesidamento chamado de metodo das extensões homopuses cos, poucos se adicionad as cerca de 100 residuos de um determinado cientidos sportes empo o dATP às extremidades do vetor el por extronado, en de 100 residuos do nucleotadeo complementar incleaso dTTP) as extremidades do vetor el por extronado, en de 100 residuos do nucleotadeo complementar incleaso dTTP) as extremidades do vetor el por autro cado, en de 100 residuos do nucleotadeo complementar incleaso dTTP) as extremidades que por en colocada com presença possam empanilhar-se antivos de suas extremidades complementares (Fig. + 5).



the analysis to be seen the engineers by a last that the same War a tayon a to a street in report to retard a Contains the reported a sound for a sound to be a second to the second t the first and the second of th the restriction of the second were at financial programmer for the first angle with the first specific and a specific programmer. become of the first and a second processing the property of the first and the second of the second o Box wilder I have a great a get the way he we get a great and the property of the party and the party de taken latte taken general, be get I but did not program to make a bloom of paying the grown of a proof of the same and a series of the same and the same (15 th and all a sea to a been the first and he also to the series or get to get a superior a series or buy after or the tip wheat they are the w y stee efficiency to the est agreement will adopt y to the term of t the property of the property o At you to be a men at the same or water than the after the separated as a file of the sea property of the season of the s created also get his made at a schedule, as an NAME A CONTRACT OF THE PARTY OF grant to the property of the state of the electronic constant of the le the second second second second the big of a big to me to provide an an an analysis ar the bound of at NA wears and

to we approach extain the back the physical and the state of the s the state of the s According to the contract of t And a Mind to the ray address . THE A REST OF THE all the present of the law Parada a Made est long per a and at the a a street down to the term of the district of a first and a street Femilia I a 15 day for Sproof and a self-table for transport of specific specific discrete and a state of the sta to so any financial and the second and the second second não poderá se recircularizar sem Insemão.

I there are an area of subsequently an area of the same areas and a second to a produced and the second production of the seco I decomplete to the designation more regarded in the desire of the second terms of the second term

be the marked as marked —

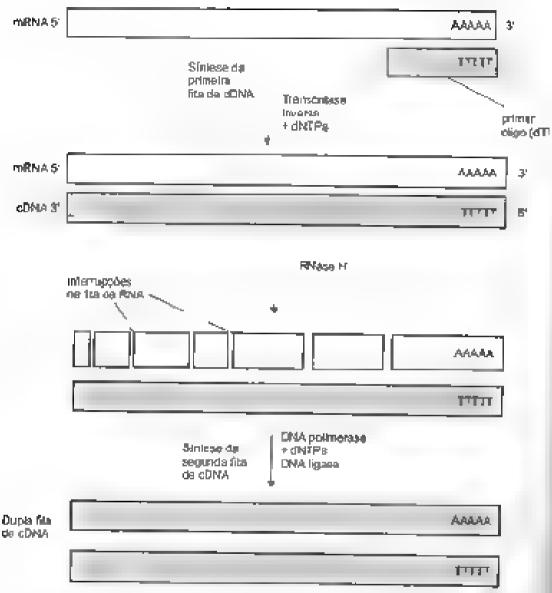


Figure 4.6 Obce jau a. DRAA in donnétudar ansur of locké a par domithé publication que onte normalizatemes and la colonidad mention into line as eminimo o normalizatemes and production or production of production in a colonidate formation of production and stemphases. It is dead on the colonidate of the production of production of the productio

Recentemente, on descoberta uma nova lectura de sintese de DNA ta retim, que permise amplificar diretamente ama determinada região de genoma. Trata-se da termea de PCR. Polymenase Cimin Reacho. " que tove um impacio formadavel em Biologia Motocular. Para aplicar a PCR, é entretacio necessár o

and a contribute as sequent day 2 tips over potent process and a financial sequent. at a China office se peraporte pone america procedes a contest pone I the property force and the provide separate comme manifest the bit ar seo de pu menzação primers. O primer e ocusos no parque a Cse 1s héalt sa aigrinde santageminale di und sa umbzim dessi per to se sera sinte y ta pe a 15 kpc me ase a regional to \$1, mp p. er a entre eign ber oget all progress in promote tibel insita a seriend i serie to a copie field to Py a experience and in some endappered destable concerand the programmer was bestance only to the premium to the 19 had a the control of the same of the property of the same radio to mentalermic are present about negretaries of emertices and the spice of the district and interpret conditions on the de man and a majormer ada quari dalla precissores e la la pidicie sec to chang his stema, come a a sint so da the simples complement it are and the description of a middle of the control of the former Assembly add to the da PCR envolve o seguinte

District inter contradigle to 15%

* Rest at a tiple to primit the emistic harmonial perpendicular con-

Electrosal dos primers, poração, o 25 A primerase.

A glad describigen da N. C. and the cappose behands do se repetit a like on a personal as a cas beinded out a refu destrict of the records of protein. Of the Notice of the cappose and seek one records of proteins. Of the like of the cappose of memory appropriate data of the like of the cappose of the cappose of the personal data of the like of the like of the cappose of the personal data of the like of the like

A temporal to IVR one restriction of security and after the first and the permits of the security of the secur

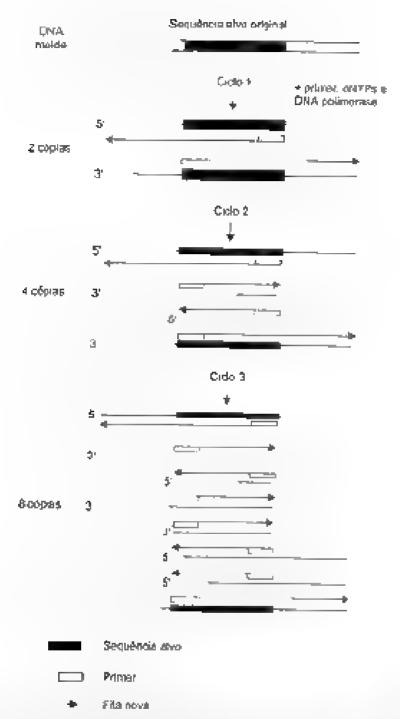


Figure 4.7 — A reson les nuadres de les la la DNA les allende a implé de a ser amprécida para solda le vinterumente de núturado por elevação de demperatura. Après la sepa açun de 2 figus do utransmire finha-polimente de actividade a vide figure nas directés induades pray flechas la vintri decada un dos primers/par de activida e resonado forma locade as fun lum la colode aque improprieta amenda de política que se on tenha lum plotación des ruda la lugamento de QNA. Deve se notar que emporado uma la mese de agun an locada nas indicas on que a veguência de cada de lugamento de cada nas composiciones a veguencia de cada de cad

de dornças genéncas. Alem desso a a ta sens bilidade da PCR permitiu o desenvolvimento do DNA fingerprinting (impressar digital do DNA iuma identità di de atto peder de resolução que possibilità a identità ação de individuas iu eleminação de paternidade determinação de suspeitos em casos poi que ista o partir de amostras di minutas do seu DNA. A sensibilidade da PCR é a disponibilidade dos primers adequados e chonagem de DNA obrido de múmias humanas o de plantas e animais a eximias. A finar exigencia da PCR é a disponibilidade dos primers adequados e preciso sabor quais são do sequênças vizinhas à região de interesse que se deseja amplificar. En reta, to, qua iuto se dispos de um ragmento de DNA qua quer inserido num listorio obtendo. E obvinique essa dificio dade desaparece já que se podem utilizar como primers as seqüências contiguas do próprio vetor.

4.5 Expressão da informação genética heterologa

Com os desenvolvimentos da Engenharia Genetica, e hoje possive expressar qualquer gene em qualquer organ smo hospedeiro, desde bacterias, leveduras, fungos fuamentosos e insetos, ate plantas e mam teros transgenicus. Vetures especializados tiveram entretanto de ser desenvolvidos para não apenas transformar eficientemente mas também formecer as condições necessarias para a expressão do DNA clonado em cada um desses upos celulares

A sintese de uma proteina funcional a partir do genc clonado depende de vários passos metabólicos, que deverão ser realizados pela celula hospedeira.

- Transcrição do gene loriginando o mRNA.
- 2) Processamento "splicing") do mRNA que rá remover as regiões correspondentes aos introns
- Tradução do mRNA em proteína.
- 4 Processamento pós Haduciona, ha proteinas que, uma vez sintetizadas, necessitam ainda sofrer modificações, pa a poderem tenatividade biológica.
- 5. Além disso uma vez pronta, é precisa que a proteina heterologanão seja degradada pela célula hospedeira.

Es identemente, uma falha em qualquer um desses possos resultará na ausência do produto do gene clonado.

Para garant na expressão do gene cionado noram desenvo vidos velures especiais chamados do invors de expressão que são portadores dos diversos elementos genéticos necessários às etapos de cranscrição o de tradução que o ce ula hospede ra deverá realizar. É importante ressa tar que diferentes sisto mas hospedeiros exigem elementos especificos. Vamos aque nos limitar a descrever os requerimentos específicos da revela bacteriana. Na Fig. 4 8 ostá representado um modelo de vetor de expressão para Fig. 6.

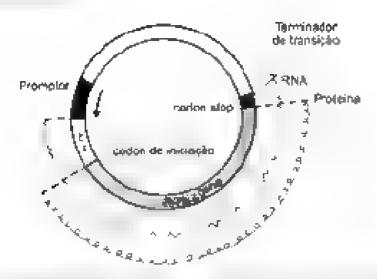


Figure 4.8 An array of the companies of

Para que ou rra a transcrição e necessario que o gene clonado estara an tercalado en relam promos ine um cerminados de transanção. de DNA, pue são recimbo idas pela RNA-por merase da cercia bi specieira hime in toram solad is differentes promotores bacter anos, que la lam quanto a sua intensidade e seu mode de ação. Os premot des fortes são aqueles que sustrinare uma a la lasa de transcrição, e foram, somo os de genes cupo fredutos san reguer dos em o las cono intracoes para o tanción abservo norma, soce that Por shall seven by prome forces true is quie say relativamente met clemes. foram, solados de genes cajos produtos são subjectes em pequenas quantidades para e funcionan ente nom al da relula Dependence da finalica se da clonation as veyes pour sell there was no obligar any promotor fractions pen exempla, no case de protomante e a la para a corola hospedorra. Emercianto a sixuação qua le podez litti ana hacteria portadoza do gime li hado atec. Dura ating na may male ensidade de ce il as para só enfal provis tria do pressão mariga do gene cionado. Para essa fina loade, são muito utilizad o vehices centendo are an outering in illique permite del controle mais estrita da expressas. Em E - o la regulação da mossima o pode ou order seja por redi cao, se a por repressio i con gene indutivel e aquele ca a franscri acisi ecorre em presença do indutor ge a mente, o indutor consistira do subsirate da enzanta e ed licada pe o gene con questão. Em contrapar da um gene repressivelle aquele cala monscriçar dicisa de pont et un prosença da substancia representation to the consequences promote resonance requestions are at 1 years of parallels as presonne and and open motor at que contro a a transcriça do genera Z eighteapart du essa tim Biggaget ei ages. Less promotor ciurduzio i por los 600s. on at as regulaciosido si o mojo septop, traga activade o FTG, de mode que ac se acide la PTC de nero de cerca o promision la certifa a em aços

a beautiful to be upon the game of such formack with the contract their chief of productifications that I produce product particle port tiple are producted integrates put and page a last the later promition action enters that if the in process from the set of process from the great and was frame. racted thing would be taken any combate has prove that a comback party 3. A pull respective for five a grand is against forgott a words in a first in had also approved to a suspense areas provided a top army from the to take he take the reserve and a factor that we will not come to be part to be made a some timbert. power of programment and and the marks of a second of a few market Proposition of a property of the contract of t instance, and the markets a set of fade for a make a meaning and a meaning personal description of the agency make and the agency and tentrally described as e the ring. I gette may be and eater property of the first and the historia which who is a great time product the first and NA promotion prop is a seen in the residence for the entire to the entire a reached a process processor in NAS positive care field que rise free a ago as no send eas to to restrict a back a disclosion to t Chica has a spite of D. Datast president a service of to et event as and a set to fe I a per a row rivery groups and NAS place and the set refer the firm proportion of the firm of the property of the firm of the property of the firm of the f to deposit the contract of the est a man and it result in the Spring of a concept to the second of the second of the second at transact accepts and performance in the disclosure of the new transaction of the second between the

ments to ENA more an electrical and a light of the sections of the appropriate of the app

A sign or a property of the second se

No part trape to a presentation of the left to a presentation of t

had beginned for each property open model for contented assembled assembly access to the area expension and according on its employed the according to the first artificial contraction. property can desire the acceptance as were conferenced to the larger to the first in an appearable is now in process and in the proceedings of the control of the procedure to the total or settled. Vitalista não e labar de remiser la ladaca tido pre ascanda de mede que same absent a complete appearant to be term to seem at literative exnever a comparation of proper and the amounts of the relation for a fermion of the no it is assistant perfect particles passed in the first quantities of desiran ships amar problems in an objective process where they do not have a second foreigned on trooping transportulities and a prosperit merespectation.

maget without and the members of an previous disconstitute of pitett in humanovere fill a prote ha softe fegrada ac pe as proteases da elea, le segerde en Para e in organ e se enchierra, node se pe i dat à los hagem de hatpa a lessation ana profesha de funto de malgan a políticonatural da longo desta in que printige a printige a est angelha da ação fas proregard from his product object of real order to a street for the order enade inaliad com a lighalise ase higher too fare sesara sima was purity governments as a and to the direction of the was served while or The second section is a second to the provide that it is the second second in to amendo out to recorde a give. Interfact, nema mote e accord reasyst spiral it appoints give an in passar area from the impostruction that a street profit is a sea to sale of region in the estate and again a special there is a faire that had people down upon the temperature in their resources as and the same discount of relations between a present and all the same of relations da legrada à parte als acres elle le la arre come le qui force l'afregerie toda e consequencem um comprenente ecuzado il problem intracerefered Lambum a second on a marker dupon derma better de qui perfer et than no source take clade mangel to his endough November 2. November 1 per engine a fer along presentations. I discrept the presentation to the present the transfer before the appearance of the first and the property of th bactéria hospedeira

والمراجع وال may an area occurs to all supposed to pale cable former de una programme tendona seatem na minasam per face anal. I populatione car consiste for within charles would prime a sile prime as the sile of the sile of the temporary to present passagem de properta des es de membra a le quar O poste de seus e satutaliente remos, e por a se de sena septidas, a mecili em cuer a sector a a while worklada like with anto arrival country deleng medical sequent sta de LPS Cique our la pupe les serse, de algorna l'illua ser ser le timontada pera e e especia se de la melle que a la segrito y alte habita them are a second discovered to the second and the second to the second and the second to the second nary pre-unite poster intensis pept les sons

4.6 - Italamento do gene cionado

for I make we say to be processed in a make the first to I place fully be unfishing a nature of a section of the control of tions I state to be an interest of the state of the following age. July paragraph Commission graph from the for game that he did not do for is action to a latter or in the control of the cont not see a text of the other showing on the same to be a display partie of attended about the property of some property of the second property of the second do Parkanda da procesa de adordo de la composição de la c refer to a design at the appropriation of the aggreeable to the feet to the section of the secti a state a first his passe book a usungs of the settless frequenched a set of a set of a set of the more and explanation may be so in the first or other with the teren production la receipe pour le le 25 h pour met la site alla sima sertrade upo and a largesty to generally to guarante you have been a In a property of each of a property of the contract of the con problem allows they the total earth of formables that each other the first enteragent of an algorithm of the first display the following of the same same same same garmany a con Jean to a grad a material representation position of the the process of the parties of the parties of the contract of t the are promoted that the medians in all community and a made

4 6. Métodos geneticos

United the service of the party of the service of t

4.6.2 — Métodos imunoquímicos:

Chart is a state of the contract of the second of the contract of the contract

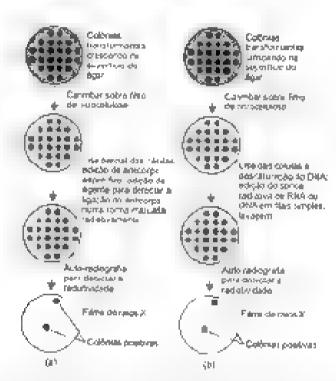
I had come to a factor with a distribution of imboding a state of any angle of to the arrivable the street of recent process at the state of the second factors. provide way specially perhaps a construction of an arrival day and writer in the late for over they also for we first a fine agent taken in consequent on sa let use latere to transit to fail set ical echagons, fair a lateral especies in tethe delibert with a security of the property than the transfer of grown amount at the land a lade. that authority advises a second of the participant of the control entac trata le para fisar as le clas e esperas pri intras de la facción a le sergar no bad importantly and extension per near proposal toppada 5 perfekti erreken erreken perri kogali irilaken erre, alt irilaken a A settled A garwings of the rate of the ra no binarati in ada a da saga tar presedi apade da lever the face of and italiangs the National and ignate copies work to not same of a discussion of the president secretaries. The property of a substidistricts against a the again and area to such a rest a section of the magnetic extends reduced a more a first site identified advise from some services I a most de les pare pare, su lepa se la la latable des pare la astate da laborado per respondente.

4 e t har skip by the tear his tore is

Experience of the extension of the property of the earlier of the section of the port of the present of the extension of the property of the earlier of the property of the earlier of the

nad formers of the producer is a case parala administration of the present and formers of the anti-bustons. Parala despite the specifical and present and present and the product of the p

Foram portanto desenvolvidos métodos alternativos de marcação, dentre os quais se destacam aqueles que se baseiam na reação entre biotina e avidina esta untima acoplado a um marcador de fluorescência. Uma vez identificado o cione que contem o DNA desejado, volta-se à placa original da qual foi obtido o filtro carenbado, para se recupera las células vivas.



ergura 4.9 - Montificación in seu da colónia recombinante, a i domificação por meio de aminorpo especíación cione recombiname é identificado por estal producindo a proteína codificiada poro gene donado la intentificação por meio de sanda genés la linicipa recombinar in élipse infracto por ocetor o μίλα cemptementaria sonda.

É possive) ter uma sonda genética disponivel nos seguintes casos

a) Quando se isolou o RNA correspondente ao gene em questão. "RNA rRNA ou mRNA Assim, por exemplo, o 1º gene eucariótico a ser isolado foi o gene da giobina de coelho, a partir do iso amento do seu mRNA ⁶⁰. O isolamento do mRNA da giobina a partir de entrécitos é extremamente (açil tado, uma vez que os entrôcitos são células especializadas, que só produzem giobina. Essa não é entretanto a situação que se verifica para a grande maioria das protoínas. Como alternativa, pode-se obter o mRNA otravés de sua capacida.

de de dirigir à sintese do produto do gone desejado num vistema de Tadução no examita esta abordagem ja e mais sortisticada. El ne em dia graças aos de sens ocimento de se gor de robditos cultura e transformação genetica de se mais de mamiferes, aiem da PCR, tor noto-se bem mais simples a taren de obte a DNAs o impletos assi la coda, a dicilipar in NAs a partir de miCNAs pouco abundantes na celara de origina. Uma sez tendo om maios o miCNAs este y ode estidente aos la ser atribado o moisonoa para identificar esta um genomico.

In Other is so trata di um perci ci mallo gratice, orserva à le pesso el empregari ima simila heter i galiou seja lo 15 A de cultic organismo. Assimiliare exemplo lo geni da actina de 5, co ils al tu su ado empregand ese como sen ta com 15 A de actina de 30, cos com los pacos.

el Quardo ja se tiver a gumas informações sobre a sequência da portema ordificada pela gene da interesse e possiva sintetizar o o jornadornides comes ponçonre representando uma pequenta sequencia diligiente e este objetituadante des sera emprejador emis sonda. Assim no lassivo otro romo e da escedara ja se dispunha de dad es de ana se da sequencia da ordina de tradicionada uma sequencia de la NA de 141,5 que pode entá escolar anticada como sonda para o isolamento do gene CYC1.

Chande se dispose de um use ada gimetros a remita biblio escálida e innsis, loscrita acumal professe residiar a ficbrida dos fectipo Solo acido. Nosse protocollapped capacity from a ONA introduction of layers internation prior amortic identitica das pera a brillação de color de Tisse IIIX e planter. remember discernica par apera na mara scene masa te restrució a separamesar as trasmen os reso librios por ejetroforese em naporte de gecie desnaturam se os triggment will also to the deliberator comparation in this deliberation chains a list sera in thad, com a sonda marcada. Por me o da auto-radiog at a dis. Dropode sa pirtimio, dentali ar o tragmento de Al que o mesponde aque la determinada sonda. A mesmi tecnica il fili aceitas filia la accesi pede serreal risea at izane. RNA sade selve. The coneste caso o proceed mentee denominado de hibridaça, qui Epic Northeim, con mejeculo Narakera, pode se ver fleur se um de erm nove gene e transcrite apenas numa de er mañ. de situação que pos cellar a lara tanto extra se o KNA total da celula lemdiferentes mimerros de sea cido de vida, ou em diferentes condições de cetti o, ou de diferentes tipos celula es ipira a realização do Northe n. Se. ocorrer hibritação com cado à do gene clora lo saberemos que estava havendo transençacido gene nague os cerciais. Também as portonas das en utas transformances podem ser suparadas por estrologico para serom em sociada. adontel cadas, atraves de teação com o anticorpo específico el neste caso a análise e denominada de Western.

I, the size to said in germ professor as supposed as done a la statione destrino ada ser inheritaria a alterações d'ogli las que permito as a implimendat as relacion centre a ristaria e horiga, homis, em ser transferido para deligioneses a toron que dan transferiment ristran el la suspendo esse.

Not que se teleste aix le les les les services en la confedence given de files sanger que deserva sano o la constantida e pas de quas a the south of department points of a contract of the south and the south of the sout and described and the second of the second or the second of the second o attended paralled policies of Orders no exist a posterior ten terms by the part of the sanders has constituted a scalable, with a proper properties describer on administration of the large terms to a few and at a data arms at a product of the p separate the extensi actions and an action to the property is an and all hages to an first he by projects 12 percept of the entrol of a members. spin reference is common and the mean of more than the DNA a sera glading soul as we will assembly a will be by the more sour as the man rate of the analysis and a service of the not do not design to the state of the state tale at your government or upontable or area fulfill had the que a I had presented a companied on a series up and a facilities again to the les demanates pie presente als major i pante da il madde ca ale una when one has what are on we sale taken or paraminable one one the original makes AT about time to remark a programmer and the physical and a state of the same of a second party of the same and a safe a few dates. up and tomands are more in the stress of the policy trains to disrestore and the area of the end of the property of the second and Na git is a substitute op sit tiete for hel eteressitatiske a proportion for PANTI decision of the appreciate partient maker the tipe were a few to be according to a court or a tapeaution. The factor we how present a dell' a serious al roma dassipencia

hape despetitives and the second section and the second section of a second section of the second section and the second section and the second section at the second section of the second section at the second section of the second section to the second section of the second section to the second section to

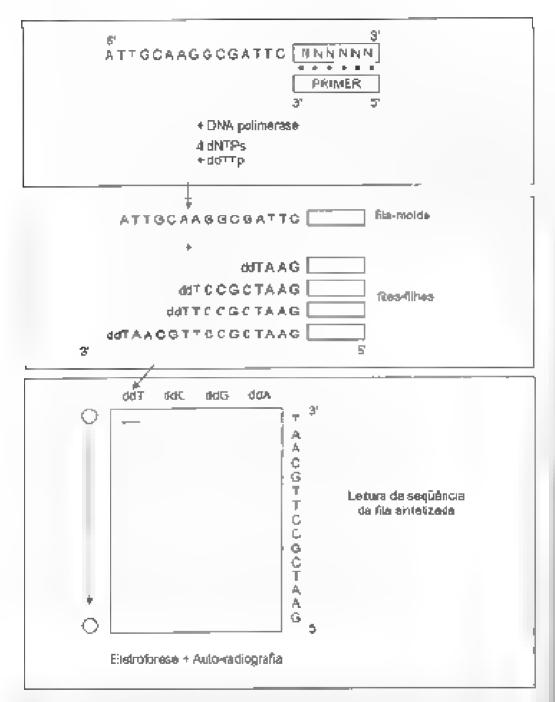


Figure 4.10 — Sequenciamento de DNA sero mendo ninzanalisto de bango — Anagmento de DNA - e a quenta guerra a formar almente consciui a que e de o terma implesión — ser a sintese in into da nova for per RNA selme gar ignire — o nomina matura — de A libés un konam de incide de uma curta sequencia de A libés un konam de incide DNA de period de Propositio partire por la libe de libes un konam de incide DNA de ente incorrectara em rangenza — interior estano Nomasso segundo estas A preparações são comete do de termo estas altitudo DNA de ente incorrectara em rangenza — interior estas altitudo A libes adoptiva no gril mos los la fregmentos de segundo A libes adoptiva no gril mos los la fregmentos de matura adoptiva con segundo de libes interior estas altitudo de libes de SIAA la fregmentos de libes de libes de libes de libes de libes de SIAA la gradita de libes de SIAA la gradita de libes de libes de libes de libes de SIAA la gradita de libes de libes de libes de libes de libes de libes de SIAA la gradita de libes de li

O Dick mouth in region and product their more motopics at the conto make the process was said of the real of their expectable data in which it is as made there to make the class of the production to be a made force. A francis so sature paper as nagerano a arm ar a la tratago with the participant to the second seco digere leste da cama agri par e parda a marina e e e e transfers from a to be digital and by the first beautiful as by a temperatural force companyone in a construct the party of the section of the entage prompted brought are to a community to prompted only a mediagen ar head reint a with his digner North face was pile a with the open in the promote area of No. 1, investigating a lot of all all ny dia taona dia kaominina dia mpiantana mpianta ao amin'ny fivondronan-ao amin'ny faritr'i Austria. a hospetical interpretation and a contract to the second sports of supervised and all the sports of the state of t reads a secure of the second section in the second you go to a man gloom y market and the special bear to be east to areas by the interesting a neglect party making make the diligate from any recess process that process is an in a purch part, all arise the a latter of transport of the state of the st from the section of the production with the destroy of the destroy a security and are present an additional week and the low I be problem. The object to a contract on a physical contract to the foreign to the contract of the angle of the contract of the my status which I while I a good man experience in the militable of the se as the contraction of the first of the contraction paging gaping a supplicated to other additional to the page 13893 fe and the stripe of the particular particular of the first feet and the dade the and they fits a tartlet a

4.7 — Transformação genetica da celula riva: diferentes secomos hospedeiros do ONA recombinante

The proportion are the angles and regard the dimension of the analysis of the proportion of grants of the first state of the first of the proportion of the first between the proportion of the

And has been decomposed and the form of the first confidence and produced the first confidence and produced and produced and a first form of the first form

segn la 1 regeneração dos plote plates apos o tratamiento com o DNA. Esse present mentil este moment e abordos posta a disequertirament le ser a disental. Il portura dos los la que emprega llurello de la reputa Lagricia a natividade hall dando distancia de servicio presidente de servicio de la formación literatura con presidente a que la cultura posta a servicio de confermicio a

In the competition to consent soil add companies the mean themselves of the competition in sections destroy the consent of the

4.7 i Hospedeiros procanóticos

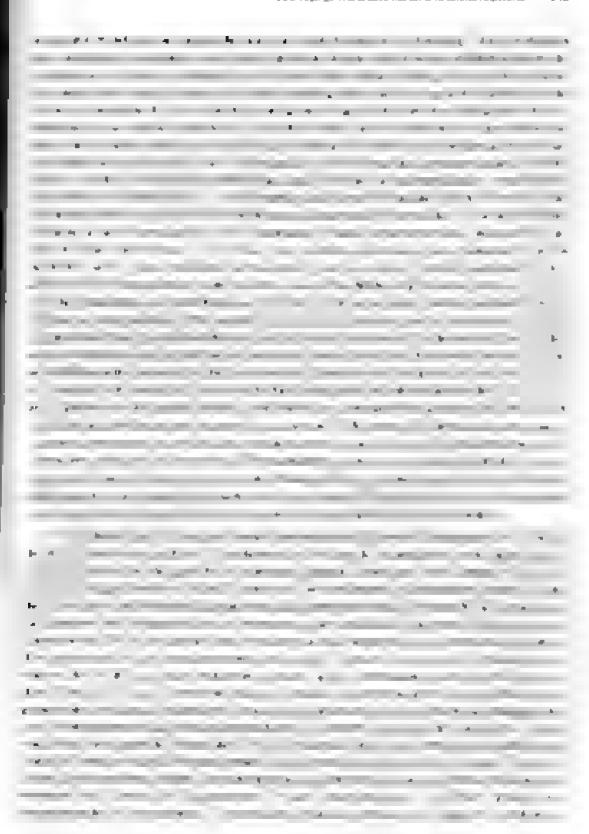
a region of the control of the relevant of the restriction of the first scholars of the control of the relevant of the control of the relevant of the control of the relation of the product of the period of the relation of the period of the relation of th

A me has provided a temperature of the least of the second of the second

It indominates to the deliberate for assignment in the emission of the factors of

4 7 2 — Hospedeiros eucanóticos

O make a said for hisperfestive can be a trained as expense as as partially into section and the first face of the partial response of a calcolor fraction of the category of



mand as the terms of a terms X X x era without the hospital and the hospita . . . torardom or the transfer of 4 p 3 - - - - - h a contract of the tentral of

4.8 Question de segurança à proservação ambiental

pytop b de la grant de la gran

. . . . 74 444

The division with his west Not in the second confidence to a superior the second confidence and programs and the second confidence in the second c

The first errors are assessment on setting an agency of the same approvale or represent the second of the first of sales and the second of the first temporal or for a second of the second of the second of the first temporal or representation of the second of the secon

Note that the response weeks the control of the con

A sector proximal distance in a control to the sector of the state of

was the trade in 1997, the first in the proof of the day in the common of the common in the security of the armigration was a married after discussional and quality of the which a free flows of the most great a seal office was and with and the property of the contract of the party of the contract de desencadear a sua própria morte²¹

A mercura tractal name care arts across of a disciplination of administrative bit. والمراجع giplate to the between the time is a sign of a secwall search take the think of the second party mantage for the man address to purpose to be to the first of specimen or a national temporary and the second of the second the property of the second sec we supplemented the problem and the particular street at the applicates that the extreme in that the six North talk in the transen la retario en error en error antario e del harror de de la recent de N n r n pr d n 152 m r r r r r where to be a server agree of the a set and a set it has the field the production of the field of the with make the company of the company we have account of a profession of the first when the whole is that the same the NA extends to be there is many and a surgerial control of the temporal of t when where you are no emballs to be, a she cold of his and the second of the second of the and the same of th have a second of the gar screen product that the second control of the Second granted that the restricted was a grant and the later that which we will elementas celulares

the programment of the state of Fire a dia up a a sa war a figure de les les quals de la dia di a militare de la dia di a militare de la dia di the state of the contract of t a set along the sales are to a set the sales Caranta a a fea coa e . Al lea e presente e a product of a sign bloom to the sign of promoting appropriate the second second second April e fe trans a la les est esperates e trada pelo microrganismo

Referències bibliograficas

RANGER MAN A members of an hard induced at attention of backetial site. ruses, f. Bacteriov.44:557-569, 1992

SMIT TO BILLIAM A section of the from temper to reflect at oficiation and general properties. Mich Breitse, Min. 9 4

- tomat has been as assented to the Procedure Acad Sci LSA 10 to 44 feet
- NOTIFIER TO ROTHER TO RECEIVE D. BL. ACT. M. MON. K. R. HIT BESTER ON CROSS COAT DATES WE SEE HER BOTH AND TO ACCOUNT OF BUILDING DATES. been I venustipospos himing as on Cons 2 at 3 at 5
- BOOK & TATE OF ROLD SHOW HE has been been as a SCHENBER A No. I'. Genética Molecular e de Microrganismos. No I' do 💎 🕆 la Marco. 1981 p. 495. 456.
- AND PARA THE PROPERTY RESERVE AT THE STATE IN BUT VAKE. BOX FROM A NAME OF THE REST OF THE PARTY OF A PROPERTY OF THE PARTY OF sermate status beginner 156 junearis, 1971
- KINDLER SCHAR STRADONALL MILITARE HERS CONTROL PARAMENTAL NEW THE ARREST OF A MEN AND DESIGNATION OF with the National March 250 No. 54 No. which will be age to
- BE A REPORT OF STREET AND AND ASSESSED. A CONTRACTOR REAR TRIME AND THANK A ARRANGEMENT OF STREET and littles recigired human tourin Proc National Sci., SA 76 10
- to the state that is the Report of the interest of the content of chm colr. Proc.Natl. Acad.Sci.USA 79:1830-3, 1982
- LRAZKIN BACAKBAN Lanctuma appearance oped ear UNA in the fine cols, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:487-91-19.
- 12 ROUGEON, F. ROUKILSKY P. MACH A marchine of the lath. Bight a grown sequestion into a colory som all boarders. A right Rec. 2. Soc. 10. 50. 5.
- The Royal And De aborded up to be decided for a new total building. correction Proc Natl. Acad Sc. USA 77 3917 16, 1980.
- TAGANGARIES FOR ALL ALL ALL AND SALES MILLIAM Men matter and solatern of the law who we got fight 14 st will will
- NUMBER OF STREET AND DAY SEQUENCES WITH THE 5 x Xx R in communication from Proc Natl Acad Sci CNA 74 No. 3 17 100
- In well that a high his set the representative keep the area of decreases. A general approach to be placed in the second second 6 . 1 %
- AND END THE PROPERTY AND ADDRESS OF THE RESERVE Somethic is not becomish to be post in Hills and number of the plant are in the part. Natural 244:347-59, 1982
- SCHOOLING A CONCORD DAST NO. 10. Supression district to go es arms asses in the least to a few or Crência & Culture 45 S. G. Cu.
- SCHOOL TRACKING RECEIVED SCHOOL RESIDER MEANING many milers, conclus mornan, "No Milenano Science advers a se-
- TANK SOR I SUBBINIDIREDALI CA SONDE ROCK the thought a return to eather the value in the St. Way To KNIK R. Molecular Coming of Recombinant DNA Academic Press New York 977 p. 248-69

- 2 MOLIN 5 RUEMMI P POULSEN. R. RICHL HUCLROSS, R. ANDERSSON P. Conditional suicide system for containment of bacteria and plasmads. BioTechnology 5: 315-18, 1987
- 2. POULSEN LIK. ARSEN, N.W. MOLIN S. ANDERSSON P. Afamily of genes encoding a cell-kibling function may be conserved in all gram-negative budgers. MoliMicrobi-
- 23. ORENZ M.C. WACKERNAGE, W. Bastena gene, ansfer by natural gractic transformation in the environment. Macrobiol. Revs. 58:563-602, 1994.

Leitura recomendada

Transport D. C. LMAN M. WITKOWSKI, J. 201 (ER. M. Becombinani DNA) 2nd Edition Scientific American Books, W.H. Freeman and Company, New York, 997

OLD, R.W., PR MROSE S.B. Principles of Gene Manipulation an Introduction to Genetic Engineering, 4th Edition, Blackwell Scientific Publica cons. Oxford, 1989.

5

ELEMENTOS DE ENZIMOLOGIA

Bayardo B. Torres

5.1 - Introdução

nita reação quim ca pode ser aza isada quanto a sua ietatolinhimos i quanto a sua or is in a A Termodinantica estuda a viabilidade sia reversita i dade das reações, a partir da análise do conteudo energetico dos estados mediale fina de uma transformação — no caso das reações químicas o contelido energetico dos produtos e reagentes. Nada esclarece porem sobre a velocidade com que a transformação ocorre. Essa informação é dada pela Cinética ma reação quim ca pode ser termodinamicamente viáxel isto e se icorrer o conteudo energetico dos produtos sera menor do que o dos reagentes) mas não se efetivar em determinadas como ções (ou seja iter velor dade igual a zoro ou produto próximo de sero). Ni o parâme nos termodinâmicos os organismos não podem interferir Como será visto ad ante, sua intervenção incide ex clusivamente sobre o aspecto cinético isto é sobre a ve ocidade das reações.

Tomando o exemplo simples da conversão preversivel de uma substância A en B $A\to B$), a coloridade da resploya) sera

$$v = d(A)$$
 $dt = ou V = -\frac{d(A)}{dt}$

A unidade de v é moies por tre por segundo, se ${\cal B}$ e $\{A$ representatem as concen rações moiares de ${\cal B}$ e de A

A ultima equação en istra que a veino dade da reação diminul à medida que a reação prossegue e a concent ação de A diminul. A velocidade é portanto proporcional à concentração de A.

$$v = \frac{d[A]}{dt} = k \cdot A_a$$

A constante k é chamada *constante de velocidade* da reação, com unidade de s. Essa é uma reação de *printera orden,* já que sua velocidade depende da concentração do reagente com expoente 1

A mater parte das reações quimicas processadas nos organismos são mais complexas, por envolverem pero menos rês motés das duerentes e por serem geralmente, reversiveis. São reações de sigundo ordan tepresentadas por exemplo, por

$$2A \leftrightarrow B + C$$
 ou $A + B \leftrightarrow C + D$

pora as qual s, pode se demonstrar las velocidades de reação serão i respectoral mente

$$V = k|A|^2$$
 e $V = k|A|B$

Nesses casos la velocidade da reação e explicada pela teoria dos caisoles. Essa teoria estabelece que para reagir las moléculas presentes em uma solução devem condir com omentação apropriada e que a colisão des em 6-las a adquirir uma quantidade mínima de energia que lhos permito ahagir um estado trativo, chamado listado de tratistição. Para les or todas as moléculas de um molde uma substancia até o estado de transição, necessita se de uma quantidade de energia definida como cumpia de atmação. Essu energia é portanto la barreira que separa os reagentes dos produtos. A decorrência direta desse mode o el que a velocidade das reações pode ser aumentada pelo menos de três maneiras diferentes. La aumentando o número de moléculas em solição, ou seja, sua concentração, como previsto pela equação da velocidade. (2) aumentando o número de choques entre as moleculas, (3) diminiamo a barreira imposta pela energia de ativoção.

Em uma população de moléculas nem todas têm o mesmo conteúdo energético em um dado instante. Algumas lem conteúdo muito pequeno, outras morto grando e a maioria apresenta um conreúdo medio, caracteristico da temperatura na qual a população se encontra. Quando se eleva a temperatura de um sistema, as moléculas, no seu conjunto, adquirem um conteúdo energôtico maior. [hig. 5.1] (a), mas é respeitado o mesmo padrão de distriburção de energia entre elas. Como em um sistema qualquer a ve ocidade da reação sera diretamente proporcional ao número de moleculas ou metergia ígual ou maior do que a energia de estado de transição, o aumento da tempe atura de um sistema acarreta uma maior veloculade da reação química [Fig. 5.1] (b). Por outro lado, se a energia de a reação necessaria para a reação ocorrer for menor mesmo maio da a temperatura inicial um número maior de moleculas concerdos de neiga a maior do que a de estação de transição o estara por anto, em condições de reagar [fig. 5.1]; neste caso, a veloc dade de reação também sem aumentada.

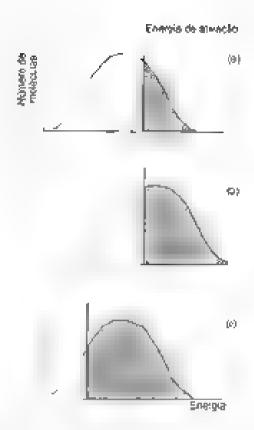


Figure 5.1 — squarile par schools de energia emminas moleculas componentes de un sistemata bema vertical as shalls of valve da energi. On il materia accurata representa a primação de invidenta com energia sufuença para 1932 — a Gisti burbito de energia em uma dada temporatur. Tirbi unistribil um ocurrenza em uma emperatur materido que in 10 horses, quo de energio de um istema na tem setatura. El mostria igo a alteraçan provocada no vivor de los objectos intra stopicos de la sactur.



Figure 5.2 haguma da leação cumha conte sén intulnados pão assina exas aleneiga, she pacião da resigio. As li compara observinga victor o nontecido energiado que produtos i dos recigios o aleneiga os ao aque dos fi

A redução no valor da energia de advação pode ser obtida pela presença de catalisadoris compostos capazes de aumentar a velocidade da reação sem alterar a proporção entre reagenies e produtiis encontrada no final da reação e sem serem efectivamente consumidos durante o processo. Podem portanto atuar em quantidades minimas, ditas calidades várias ordens de grandeza menores do que a concentração dos reagentes. O catalisador parti cipa efetivamente da reação sorrendo alterações de sua estrutura quimina durante o processo, invariavelmente potêm, retorna à sua forma original no final da reação.

O processo petriqual os catal sudores aceleram ima reação química con siste em char um novo "caminho" de reação, para o qua, a chergia de ativação requerida e menor (Fig. 5.2). Um exemplo simples deuse novo caminho é mos trado na Fig. 5.3 através da hidróuse do imiestr catal sado por ions. Hi i a relação consiste no lataque do oxigênio (que tem carga meiobra negativa), pertencente à molécula de água la o carbono presente no ester tique tem carga residual positiva, em virtude de sua dupia ligação com o oxigênio. A energia de ativação requenda para atragir o estado de transição é a talida presença dos ions. Hi cria um caminho alternativo para a rearão, o con. Hi liga-se ao oxigênio presente ao ester alimentando a carga posto va do carbono e tornando-o mais susceptivel ao ataque do oxigênio da agua. Para esse novo caminho a energia necessária é menor e portanco, em uma mesma cemperatura mais moléculas poderão reagir e a velocidade da reação será alimentada pera presença de Hi. Seguindo modeio semethante muitas reações químicas poderão ser aceleradas por ions OHI por ons de metais, etc.

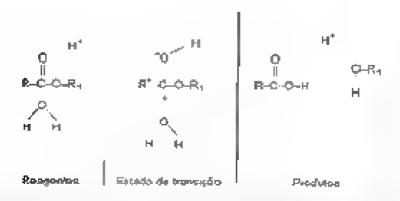


Figure 5.3 Medalin Ruca i direkte de limitis, el satá valua 500 M. A vergenço do centaño e a cilidepenção de la principio de la competencia undo com amboro de relação que receberar energia de ativacido munha do que o da reação PAO catalistica.

Fig. 10 time that had been a series as the second of the manager of the series of the second of the done has called action to take a rest done in the profession harmands to was 4. Hallow his was well not go at plant to a triber part as sever to a deterprised was to increase site in large and good a modern a day reagon of a missing as west test and was go a subject from it is a section of the safe in the safe will be a marches Tommer and the angent of the light has been properly as the appropriate and the atal as re democrate cara bora d'an use qua ergatice en a cotomoreti aude egest uttern quarte med a emitterny front. The means give a radio to the residence to the part and other seasons while we courts a consistency to the fire the section of the fire that the consistency of the fire that the f to empression a search resortact seasons properly adequate North say a retain to an ear ear ear a first from a race complete e emmin at the demonstration of the specimens of the second second leave taken to the following to the law to the place to the following they was for a different above while that a distribution is a mindand the an arger made a product of the first and the day day t in a configuration of a conjugate page to add and res inorgânicos

friend with expression appropriate while is all address congangles. A taska Migras Comparation of the long as a garage as a to a length to a control of the cont account the many contracts a many groups on the country to properly and properly and properly can die ea in impositore in electron um elegionemie tribla que el haces by the second of the rest to a party against the second of to take the properties the few extends in them. At the his property will be the first to the time of the contract of de ata santa de do com e ademisión to tello a deser imposible gera marchine i en marchine a la material proprieta international e ular também está sob rigido controle

Kernaria da la labora la tradición del productivo de la constitución d altan in malada din keranggi anggan til paggi mana at sami a talah saglan. wears per a man an amount of same at the contract actions of a man and de anno fore en a la recongres transis qual e la leminar e caracter. I selectiva for a large more residence of the form of the second common and the there become an item as to produce to a right management recovered to terre scarce in a propose of each making seath it is exactly engine daily in como a conhecemos.

5.2 — Estrutura das enzimas

A military more distribution and personal faces for environce Impose a fourther districtly appealing that have the so producting about wies a little forces as grade has say faite in any finding. Other aid at ten-

ammoàcidos, algumas incluem em sua estrutura um componente não protéico, designado grupo prostetico. São macromoléculas, com pesomo ecular variando entre cerca de 5 000 a até mais de 1 000.000 de dá tons. Dáiton e uma un dade de massa leguivalente a 1-12 da massa de um átogio de carbono 12. Com exceção da pro na os aminoacidos componentes das proteinas (f.g. 54) apresentam uma porção comum, um átomo de carbono ligado a uma carboxila, a um gropo amino e a um átomo de hidrogerão 🕠 quarto substituinte do carbono e uma cadeia, chamada grupo R, específicaporo codo amignoácido. As pre priedades par idu ares de cada am noár do são dadas, portanto, pelo grupo R.

5 2 L Estrutura primaria.

Na motécula protétea los attunoácidos estão agados uns aos outros atrarés da ligação poptidiça. Fig. 5.5% estabelecida entre o grupo o-carboxila de um am-noácido e o grupo α-amino do aminoácido subsequente, formando ama tonga cadeta.

4 BALL LOSS

			APO((Hidro	LARI Sidbo	ES >s)		
Gilona (Gij	Alanına (Ala)	Iso	deueria filoj		evenue (Lou)	Metionna (Meti	Velva (Vil)
c 00	000		000		coor	600	900
ы ^а м, С∴н	$ H^2 M_{\varphi} ^{1/G} \leq H $	H ₂ NP	Ģ HI	Hal	М≒сн	H ₃ NY=C+H	#aN≒ Č. H
Н	ен	н	$C \sim QH_{\mathfrak{F}}$		CH2	¢н;	Ġн
			ÇH ₂ CH ₃	F	CH CH	¢н; \$ Сн,	нус сн,
nptaking (إربات)	Ferilala 'Pba	nintal		min Proj		·	
600.	CO	0		00	٥		
B ₃ N⁴ G H	MJMF C-	Н		Ç,	Н		
ĢH ₂	ĆH ₁	2	H ₂ N ²		¢H ₂		
C + Ou	' C	e p	н,с		CH ₉		

Figure 5.4 - Ammonighe proventes, a proteinal consumerors vedero-rame encontrada a pr. - 7 par mar la des ammeadoss audes no letes que apresentant la galeistada equida negativa nesse phille ammoaticos basicos, os que 16 o larga positiva listaminoscopos apolures apresentam um golipio il debrigorico. Os aminoscopos polares sem Large Stropmosters gode, magagin agreed and any eliminativities would use grupous anning de jodge de amnoserdos esta rollució de sa esquenda ixo- lando naza se do sómero. Amenogranse i necilido encomisados ose protonias de qualquer sonstito. A protos é un latitida, do com uma istritura espena llem que não existe grupo amb no. 🖁 a rigor lum aminoacido.

Note-se que essa ligação é sempre re la com os grupos α, grupos carboxila e grupos amino presentes no radical R (como no glutamato, aspartato e lsina jamais participam da ligação peptid ca. Portanto, uma cadeia protéica composta por por exempto, 150 aminoácidos, cerá uma extremidade em que o grupo α-amino do primeiro aminoácido estará livre e outra em que a α carboxila do ultimo aminoacido também estará livre. Por convenção, a cadeia de aminoácidos é sempre escrita iniciando-se com o aminoácido que tem o grupo α-amino livre.

O que caracteriza rada enzima é o minicro de aminoacidos componentes de sua cadera e a ordan em que eles se encontram ou seja la sua estrutura promério. Assim la pesar de constituidas por apenas 20 aminoácidos diferentes las possibilidades de estruturas diversas para las proteinas são muito grandes. Como se verá em segu da la estrutura primária é responsave pe las estruturas de ordem superior que la proteína exibe em sua forma celo ar lou nativo.

POLARES (High-of-los)

Po	olaren com cargi (Bidaicos)	positiva		Poleme com ca (Acad	
Arginina (Argi	Lipine (Lys)	Hetdi (Hs)		Aspartato (Asp)	Glutamato (Glu,
000	CO0.	ÇO	IG.	COO.	000
H ₁ N ⁺ C H	HaN* Ç H	H _A N* 4C=	я !	H ₂ N ⁺ - Ç − H	H ₃ MÎ −Ç − H
¢H₂	ČH ₂	ÇH	l ₂	ÇH ₂	¢H₂
¢н _а ¢н _а	CH ₂ CH ₂	Ĉ.	Nie Wiel	C00.	¢oo; ¢H₃
Ņh C∈NM,	*NH ₃	Н	H		
ŇN _Z		Polares e	em cargi		
Aspiragina (Asri)	Clateina (Cya)	Glutamina (Glo)	Serina (Ser)	Treoritis Thir	n Troping Tyri
COO.	COO.	C00	CO0'	COX	000
H _N * ¿ H F	l _a N' C H	$H_1N' = C + H$	н₀м1 С н	H ₃ N′ - Ç	н н₃и⁺сн
OH ₂	ČH ₂	ÇR ₅	ÇH,	H ₃ C − CH	CH ₂
C _{io}	SH	ÇH ₂	фн	OH	
H ₂ N O		,Ć,			
		H ₂ Ń Ō			òн

Figure 6.5 — esquente da hongoja da juga popidas i opresentado polo inigo noticindo essa fesquio ambiaccurtece residencias in prix despoisación ana ana accuración en internativo envicabilidad acta inscribars el cual de antese protesta que no a distretiga lixos no 9 dA illomatomos etc. Lesquenta representa apellas o resultado latriat the property of

Vole-se que a monotonia da estruju ya proiéica é apenas apazente. A divers dade dos radicais R e as ligações químicas que ecorrem entre e os farão. com que cada hipo de prote na lcore sua estrutura pri mana própria lapresente. ima conformação espacial que lhe é peculiar e lhe permite exerçer sua função. que e dependente da sua forma. Do tato, a cadera peptidica linear, como esta representada abaixo, não existe em solução.

A cade a pepudica poste ser portanto, representado assur-

522 Estrutura secundâna.

Dois apos diferences de organização regular chamadas estrata as se undarias, são encontradas nas enzimas. A cadeia peptidica pode ter segmentos organizados em la hélice. Essa estrutura é formada e estabilizada por pontes de tridrogênio estabelecidas entre o átomo de nitrogênio e o átomo ωc os γ gênio (Fig. 5.6)

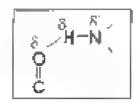


Figure 5.6 Professional tropped comme commerces as against the business of deciding expensional professional commerces as a second of the second commerces as a second of the second o

Cada goção piptidada fereccies elementos para a iormação da ponie de hidrogên o um átomo de hidrogênic or calentemente gado ac ortrogenio e o oxigenio preso ao carbono por uma dupla rigação. Cada ponhe de hidrogênio é uma rigação fraça más i glande rúmeto dessas interações contere oro la estab hidade a estrutura que mantêm. As ligações consucionas do esco da cadera proteida não tem ángulos de 180° min interações consucionas de acama sugere. Os atomos dispômios e espacialmente e imo percentemes a dos notabled como a forma que a liga ão por ponte de hidrogênio e estabelecida entre os atomos constituirtes do uma ligação poptidica qualquer e las atomos da quarto ligação poptidica subseiguente que a no taido hélico aproximos da primeira (higi § 7). As pontes de hidrogênio dispômis se paralelamente aciencida hélico los grupos Riprojetam-se para o seu exterior.

O segundo tipo de estrutura secundária, incontrada has proteínas é chamada pilha β-progranda. Fig. 5-8). Essa estrutura e formada por um arranjo paraielo de dos illumais segmentos de cadeias poptidicas quase totalmente distendidas e também é manado por pontes de hidrogênio zormadas polos mesmos elementos que constituem as pontes de hidrogênio da a hélice. Nesse caso porém, a ponte de hidrogênio une dois segmentos distrotos da cadeia protéca e situa-se em posição perpendicular ao eixo da cadeia pohpoptidica.

Deve sum tar que a estrutura secundor a tem sempre um padrão regular ja que e formada por elementos denviad is de outra estrut na absolutamente regular na ladera protéria a ligação popularia. As enzimas apresentamem sita con remação espania las disas estrutoras secundárias aescritas. Parte do cadera está organizada em cober de parte em troba Repres teada e aparecem amda regiões de conformação integu ar indicatando os segmentos com arranjo definido (Fig. 5.9).

Figure 5.7 squerra la or-hético l'estabilità ada por pomes de mitrogénio, dispostas per ponga planner for a l'adeal polipotorica.

Figure 5-8 — **Fs**quema da illina β-pregustada, estabili aca por pontes da histogenuorom ada; ni tre dos segmes da ladora polypoptico a disposiza perpendicoarmente a exc

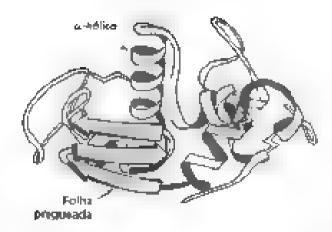


Figure S-1 = Estreture de Gozana, indicando segmentos em a-heixe segmentos em foina β-preguesais (mécax, per setas) e regiões sem estrutura regular

523 - Estrutura tercána

A estrutura terciária descreve a conformação tridimens unai que a molcula protexia assume em solução. É sua conformação real, pois os niveis infi riores de organização têm apenas interesse didático, não existindo protein. que contenham apenas aquelas estruturas. A estrutura tercianta expliça o de bramento da cadeia peptidica com os enrolamentos, dobras e voitas que compõem e que a levam a uma forma gera, globular. As ligações quimica que establicace n e mantém a estrutura terciaria são formadas sempre enhios grapos Ridos antinoácidos. Como esses aminoácidos variam em numero. em possção para cada enzima considerada, a organização espacial tambén varia para cada enzuma. As forças químicas, porem, sã comuns a toda: Para entender o enovelament, da cadera protéica, deve-se notar lem primero lugar, que os grupos R dos aminoacidos pode o ser divididos em dots t pes (Fig. 5.4). Corca de metade deles são apo ares el protanto, hidrofóbicos Os outros são polares. Entre estes la guns apresentam carga elétrica aquid. positiva ou negativa, e os restantes, embora não techam carga elétrica, sã polares por apresenta, regiões do grupo R mais negativas (como o ux gent da scrina e da treorma e o enxofre da untefra e regiões mais positiva. como o atomo de hidrogento ligado aquetes atomos negativos). Como agua é um sossente pour los grupos R apolates tendent sempre a aprox mar se uns dos outros (de forma a excluir la agua le life seu conjunto, 5, qa rem se voltados para o interior da molecula, enqualido os grupos polare. voltam se para a superficie. Essa loca ização direreix ai cos grupos R. provocada pelas interações indisofoticas constitui uma torça poderosa de dobre mento da cadera poupepiidica

Outras forças devem também ser consideradas. Grupos Ricom carga eléativa positiva (presentes em lásma e arganina) fazem ligações eletrostática comprepende comparigations as aspurtate explaining. Provide the case for the control of the cont

As interia, ses retend siate aqui con i responsa sis pera escritura trodi mensional das in mas sa lindas lengas frices. Mas node ser encintrata também ama igação cosa ente tarendo parte das ligações que mantem a estrato a tercar a fas proteinas sao as atraba side antir importes se incluidos por ocadado de dissignapos. Siti cada o indio quas presente na acora foreira de um mas de cistorio de la atribucido a apresentar siti no grupos. Atraba o indio quas apresentar siti no grupos. Ri sergir so in um de ai inconcidor a forma de aminose de encida a indicio societa arollesa. Som toda a protecula do a trobase de esta in sonte parque alguns atom si teram el mons dos na formação de ligação popilidada.

I reportante ressiltar que a l'arms especial aciet et a l'especialiste per assistant de le resultation de sus estrutura arient. L'incomuna que que es assistant de sus estrutura arient. L'incomuna que que es assistant de sus estruturas esta de source de la resultation de sus estruturas esta de source de source de source de source de source por esta de source de source de source por esta de source de sour

5.2.4 Estrutura quaternána

Continuos pri coeptidio a proteina não são sinor from contribule de cide a cristitur la pido amine acidos rigacios por injugios septidios de los permanos coma acepça vesto ata informativa de investa como como lança. Seu as environ mais sono e retrituidas por a mais in antice e pido pido a propieda a propieda como deservos e por tela propieda como de expansión por telas en as quer casa a deservos encorpor telas en as quer casa a deservos en experiente.

formadas por duas ou mais cadeias poupeptidicas iguais ou diferentes, que isoladamente não tem capacidade catalítica, nestes casos, o termo proteina só pode ser aplicado ao conjunto tuncional e não às subumidades (Fig. 5.11). Estrutura quaternária ó a organ zação presente nas proteinas compostas por mais de uma cadeia polipoptidica e descreve quan os e quate monômeros compõem a molécula e como estes monômeros estão associa dos. As lorças que mantém unidos os monomeros componen es de enzimas com estrutura quaternária são as mosmas que mantêm a estrutura terciaria ou seja inforações hidrofóbicas, pontes de hidrogênic e ligações salinas, tormadas, entretanto, entre grapos R de aminoacidos pertencer tes a caderas polipeptidicas diferentes. A exceção são as pontes oissulteio, ausentes da estrutura quaternória.

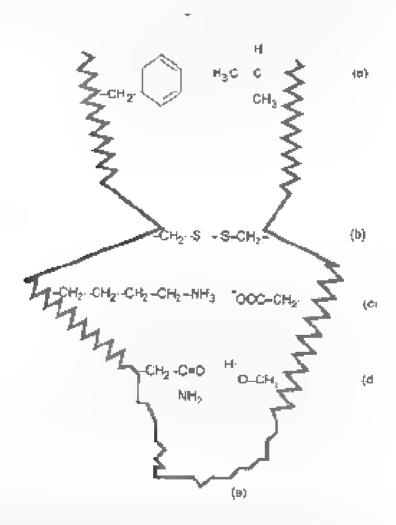


Figura 5.10 Esquema cas ormopa i garder respondición dels estrutura ser analesis enzimas, a interrição hidro-Rópica (o) ponte dispulsibilio i regação eletrosistaça, di ponte de higrogenio de região sem restadora definida

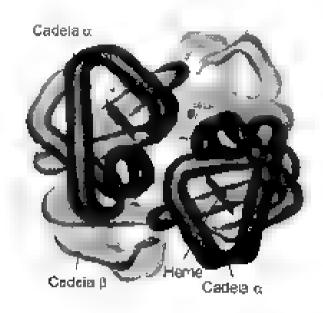


Figura 5.11 Estadura quaternária da hemoglobara (uma proteíra, lan enzimatica i propose, des quatro lanteas, polipectiónes, guas diags a diags.

5.3 — Ação catalítica das enzimas

A part r da estrutura protesca pode-se entender melhor as propriedades. catalit cas das enzimas. O primeiro ponto a considerar e a grande di ferença de tamanho entre a enzima e seus substratos. Em exemplo numérico la enzima ureasci que ca alisa a reação de hidról se da uneia, tem peso motocular aproximado de 500,000 dá tons, enquanto a uréta tem peso motecular de 60 e a águade 18. O investimento energético para a sintese de uma molecula proteica tão grande lus, fica-se pela obtenção de uma estrutura muito precisa com reentrâna as de forma apropriada e com grupos químicos localizados em posições exatas para servir a calatissi. Para que esta seja exercida los reegentes (aquichamados substantes) devem - gar se à molecula da enzima em uma região específico de sua superficie, chamada sitto ativo. O sitio ativo e uma caujdade com torma definida, aperta na suporficie da molécula giobular da enzima. constituida por grapos R de amiguácidos que podem estar distanciados na estrutura primaria da protecha imas que os dobramentos da estritura terciário rouxeram à prox midade una dos ou ros. É essa forma definida do sitio ativo que confere especificaliste à catálise enzimanca, para ser reconhecida como substrate atna tiig legula deve ter a forma adequada para acomodar se no sitio ativilic os grupos quin nos capazos de estabelecen agações com os grupos R ali presentes (Fig.5., 2).

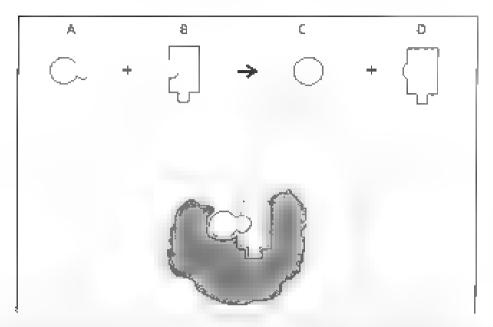


Figure 5-12. Esquer a de uma lengto de upo 4 + 5 - 5 que prisme la ministrativa de un graco adrivid. A comprete é a comprete é à respecto de moder de notario la les qui modés de 16 na nosque figure de 4 de ministrativa de 5 de 16 na nosque figure de 4 de 16 de 16

A relação espacia entre substrato e enzima não deve ser vista segundo um modelo ngido de chave-ferhadura. A aproximação e a ligação do substrato à enzima a tera o delicado balanço de forças responsáveis pela manutenção da estrutura fridimensional da enzima, amoidando sua forma à forma do substrato e fazendo a adquirir uma nova conformação, ideal para a catá isc. Assim como a enzima, os substratos têm sua conformação tensionada e distorcida aproximando-se da conformação do estado de transição. A ém disso o substrato, corretamente posicionado no sítio ativo, está proximo de grupos 8 decisivos para a catálise. Retomando o exemplo mostrado na Fig. 5.3, o grupo positivo. Hi da catalise não-enzimatica podena ser substituido por um radical 8 positivo de um aminoacido do sítio ativo na catálise enzimática, passando, portanto, a reação a independer dos choques casuais entre as moirculas dos reagentes. É esse conjunto de mecanismos que forna a catális e enzimática vão eficiente.

5.4 – inibição da atividade enzimática

A carálise enzimática pode ser impedida por compostos, que quando presentes no meio. Egam-se diretamente à enzima, impedindo sua ação. Existem basicamente dois tipos de *mibidores*: competit vos e não-competitivos.

Os *mitulores computativos* são substâncias que tem forma estrutural suficientemente semelhante à do substrato para poderem ligar-se ao sitio ativo da enzima Faltamilhes, entretanto grupos quimicos que pudessem levar a reação a cabo lo resultado da sua presença no meio de reação e o estabe ecimento de uma competição entre as moleculas do imbidor competitivo e as do substrato pela ligação com o sito ativo da enzima (Fig. 5 3 Naturalmente lo porcentual de nibição resultante dependerá de dois tatores. (1) as concentrações relativas de substrato e inibidor competitivo. (2) da atinidade diferencia da enzima pelo substrato e pelo inibidor. Por suas caracteristicas, a inibição competitiva é bastante específica.



Figure 5.13 — Estrutura da substrato (sucurato) e de três imbidorris competitivos da sucuriato desidrogenaso

Os inibidores info-competitivos têm mecanismo de ação completamente diverso. Sua forma estrutural não guarda qua quer semelhança com a do substrato e a nibição é excito da pela sua capacidade de ligar-se a grupos R específicos, geralmente fora do sino acivo. Essa ligação, altera a estrutura da enzima, impedindo a catálise. Por exemplo, ions de meta sipesados como "b" e Hg. Il gam-se facilmente a grupos -SH. Estes são grupos frequentes em proteinas (presentes nos grupos R de cisteina). A ação inibitória dos ions e por isto bastante, nespecífica, incidindo sobre um grando número de enzimas, o que explica a toxidez destes ions metálicos, aivo atual de sérias preocupações ambientalistas.

Os inibidores competitivos, pela sua especificidade têm tido largo emprego terapeutivo e constituem um instrumento potencialmente interessante no controle de vias metabolicas. A presença de inibidores não-competitivos nos organismos é gera mente aciden a

5.5 – Regulação da atividade enzimática.

Os organismos podem regular a velocidade de uma reação catalisada enzimaticamente em dois niveis diferentes. Primanamente la síntese da enti-

ma é am processo controlado respondendo às variações das condições meio. Como a velocidade da reação cata isada é diretamente proporciona, concentração da enzima uma maior velocidade de sintese pro ilegia a vimetabólica da qual a enzima participa, o contrár o também é verdadoir Esse a vei de regulação está loca izado no processo de transcrição do gerque codifica a enzima e é objeto de estudo da Biologia Molecular.

As enzimas já sintetizadas porém não tem uma atwidade constante le tão sujei as a um segundo nivel de regulação. A modulação de sua at vida pode dar se através de regulação alosterios ou modificação caralonte.

5.5.1 - Regulação alostênica

Alguns compostos produzidos pelo metabolismo tem a propriedade a ligarem se, com alta especificidade a uma região de determinadas enzima designada acia absignada directado diferente do sítio ativo. Como é possive prever a gação de um composto qualquer modifica a estrutura terciár a da enzim com dois resultados possiveis a nova conformação pode auxiliar a catalist, o prejudica la. No primeiro caso, o composto e unto riculador alesterios positivo no segundo, ejetuador atendemo negacion, o enzima que apresenta o sítio alostinos, o portanto pode receber o (ou os) efetuador atentemo ou os efetuadors alestêncos) é chamada enzima atentérica (Fig. 5.14).

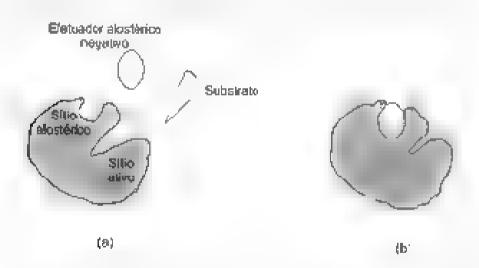


Figure 5.14 - Esquerra de uma eren la akusté la likhasa itoricantação la gação corelendador Rogênio, au al akusté afolitica a esticiti o lea entre a refer buido a igação do substrato ao entre actor e nomino i data el

Esse recurso para a regulação da atundade enu mática é largament empregado pelas cé mas no controle de son membousmo. Praticamente to das as vias metabolicas con am com uma reação cata isada por uma enzima alostença sensive, a algum dos produitos finais da via que atua como eteria dor alostérico negativo. A ligação do eteriador alostérico à enzima y revers

ve. e, portanto, o purcentua de enzuna que se encontra ligada ao efetuador está na dependência da concentração deste. Quando o composto acumula se em virtude do ado funcionamento da via sua ligação à enzoma alestência aca reta dom nuição da velocidado da reação por ela catalisada e a via e desaceierada. Se a seguir o efetuador alestênico é consumido por ouara via, a diminuição des la concentração provoca seu dest gamento da enzima, que volta a funcionar com velocidade "normal". O processo constitui um mecanismo perterto de fudiada impedindo o acúmulo de produtos desnecessarios. O eferto alestênico é específico para um pariofetuador alestênico-enzima. Assim, um determinado composto pode atuar lomo efetuador alestênico negativo sobre algumas enzimas e como etetuador alestênico positivo sobre outras, pertencentes a vias me abólicas diferentes. Quando a concentração cetular do efetuador alestênico alimenta, a gumas vias são hibitas mas, simultanenimente outras vias são estimulação, fornando harmônico o funcionamento celular.

5.5.2 Modificação covalente

A gumas enz mas sao submetidas a um processo de regulação que cunsiste na ligação con atente de um giupo químico à sua estrutura. Um exemplo frequente é a transferênção de um grupo for ato, provinciente do ATP (ou soja, Adenceona Trifosfato, o principal composto de alta energia presente nos organismos, para a enzima atvo. Fig. 5.5). Naturalmente la presença do grupo trasfaco acarceta a mudança da conformação espar a da enzima outra vez com duas consequenciais possiveis para algumas enzimas a nova contormação (catalidos entre inativa; para outras só então forma-se um sido acivo tuncional. Assim, quando várias enzimas são simu rangamente tosformadas, o metabolismo é dirasticamente alterado, sendo acionadas y as que estavam nativas e nibidas vias atelenião funcionando.

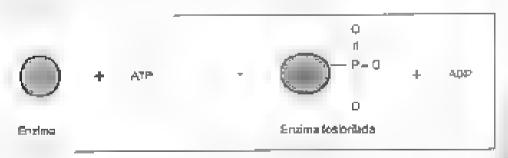


Figure \$.15 - Modifica, as notalembre de uma estama. Augação do graposlocido i independente do ATP osada a los termação de estama, efectando que atinidade

5.6 — Influência de meio sobre a atividade anzimática

A estrutura e a jorna do sítio ativo são uma decorrência da escutura tra dimensional da enzima e podem ser afetadas por quaisquer agentes capazas de provocar acudanças conformacionais na estrutura protéce. Isso coma o estrutura vidade enzimática dependente do meio ambiente, notadamente do pH e temperatura.

A maioria das enzimas apresenta um valor de pH para o qual a sua atividade é máxima — a velocidade da reação diminu à medida que o pH se afasta desse va or ótimo que é característico para cada enzima mas, com frequência, está próximo do pH neutro. A influência do pH sobre a catálise enzimatica só pode ser compreendida a partir da análise dos grupos dissociáveis presentes nos grupos R dos aminoácidos. De fato histidina arginina, lisma glutamato, aspartato, cisteina e tirosina (Fig. 5.4) têm grupos R que podem ser considerados ácidos fracos de Brônsted. Pola definição de Brônsted. ácidos são compostos capazes de dissociar-se. I berando H*. Acidos fracos são aqueses em que a dissociação não é completa, restanto em solução também lima porcentagem do ácido não dissociado, existe, portanto, um equilíbrio químico que pode ser escrito.

$HA \leftrightarrow A + H$

Como a equação acima sugere, as concentrações relativas de HA e de A dependem do pH. Quando o valor do pH é baixo (a ta concentração de prótons), o equilibrio rearranja se pelo aumento da concentração de HA e diminuição da concentração de A. Quando o valor do pH é alto (baixa concentração de prótons), ocorre o inverso. Os grupos R dissociáveis dos aminoácidos comportam-se de maneira analoga, como está exemplificado na Fig. 5.16. Portan-o, cada grupo apresenta se agado ou não ao próton, aependendo do pH.

Figure 5.16 Disokução dos grupos Ride aspartado 💎 e de isura 16

A forma dos aminuácidos representada na Fig. 5.4 são as predominantes em pH = 7. Nesse vaior de pH, alguns grupos R (como o grupo -COO presente no glutamato e no aspartato) encontram-se dissociados e com carga elétrica. Outros como o grupo -NH, da lisma) encontram se associados ao próton mas também tem carga eletrica nesta situação. Uma enz ma que se encontrasse em solução de pH igual a 7 apresentaria portanto, os grupos R de seus aminoacidos na situação descrita e, portanto, aptos a formar ligações eletros táticas importantes na estrutura terciária da molecula. Se o valor de pH da solução for diminuido, alguns grupos do tipo. COO captam prótons, atendendo

as appropriate de logo concentração e a necessarita fectie reacostar o especibleos fa disser action in receptops so assert em a OCEI perdendo incarga metrica. A caca sie etrostati a da qual exentua mente parti (pasam f. C.OO). dense de existir e il estrutura espacida enzima e alteraca. Anal igamen el se o caur de pid for elevado prapos do tipo. NH, se a ildissociados con vertendo se a NH perdendo também a larga eletrica la ligició elemostati. ca da cual partir pissam se a rega mente cesteria. Alem de contribuiron: para a pranulen ai da estratura tenciaria da enzima la juna desses grupos podem layer parte du sit u at su e para estructem seu papel deseran apresentar. carga elétrica.

Em resumo la soficie si la disipiti sobre a catal se esa matica e mercada sabre in graphs. Executively textition are to a lifes. A pure deservations perfere giver parte from in at vivil in section, more than the railread engage dailer. teritora espacial da motivacia. A laça calor de plit alguns desses grapisspresen am se protonac is ou desprotonados. Existe uma concentração hifragien son a que propieta um ceterm raido arranto de grapos prevenacios e desenvienados, pue aesa a motestra de envirsa a conformação ideal para extreet sea proof catating. I see pH of no depende, so taste, co numero eppo de grupa sion vaves que uma envima apresenta, ou seja, debende desua estrutura primaria. Por outio aido, quando o substiato contem grupos no zace si us variações de plo também poderão afetar soa çarga. A etil epda da ca abse dependerá, então de encontrirem se enzima e substrato nom confermação e carga adequadas para permitir sua infeliação.

5.6.2 - Temperatura

A influencia di tempe atizza sobre a cine, la da reaglic enzima ica deve set entendicalem duas tases, fistint allem principio aumentis de temperata. ra les em a aumentos de se ocidade de reação, nos auxientar a energia poeticalidas moleculas compette, tes de sistema laumentando a probabilidade de chalabes ele in issen reletas il sse contra observado em um intervalo de temperatura compativel com a manutenção da estrutora espaçad da envinalert peraruras ministritus, estam a de manação da entrina e lise a la penda de sua estrullara hatis à l'illante al pièr a te arein as ligações qui micas en elmante to sea escatara tomanero or a chor polas as ser tes de badreges o que serving as particular territorists as idinarroad as as in a capitate della ferracioni e tratorais, les ando a enviral a junta posa e unicomação ou a un instado se tiestrutura delimida, a ene ma e dita entan de na urada. A temperatura que provincia. Secramoração, satural mente varia para cada enzima mos egizalmenle insta produci accesso de constempor propa, cipa-

5.6.3 Desnaturação

A desputa agrego descara e la adama como a perda da estrutura que properson a marical sale province and distribution from the algerties alternational arangem present

cam apenas as ligações covalentes da estrutura proleira, ou seja, as agações peptididas da estrutura primana e as pontes dissufretu da estrutura tercia não Não so temperaturas elecadas levam a desnaturação. Outras varias era de meio que aretam as ligações químicas tem o mesmo eleito. Assum, intores extremos di pH provocando protonação ou desprotonação de grupos locaste dam perda da atividade da enzima. Os tetrograms contem porções hidrofotocas estras motocalas e sua presonça em solução interiere fontemente nas interações hidrofotocas entre os grupos R importantes na manutenção da escrutura proteiva, sobjectes aportes maidando a constante cieté aca do niem atte am a torça das ligações eletrostáticas provincando oestraturação. Na maior parto dos casos, a desnaturação é um processo i teste socia.

5.7 - Co-fatores e coenzimas

Manas enzimes necessitato do essoc ação com outras moteculas ou tons para exelucir seu paper catal no Esses componentes da reação enzimato a cão genera apoente chamados co fatores. Os co tatores podem sor uma metallo os un moteculas arganicas, não protescas de complexidade canada que recebem nume de construits.

Os ions metalicos agam se a grupos R de aminoácidos da cadeia proteica ou esido presentes em grupos prosteticos. Camprem pape, decisivo ne cata isci participando efet vali ente da reação qui tica. A gumas enzimas aceitam varios ions metalicos bivalentes, onto ativadores como Ca. Mg. ou Mn., enquanto ou las exigen um lon específico para a cala iso. Esse ior pode ser de tre. Ca. Ni. Co. Ar. Sciou ae cala isono ativa-

As coenz mas atuam como aceptores de atomos ou propos funcionals rentados do substrato era uma dada reação e como dodo nos desues masmos grupos ao participarem de uma outra reação e punisto diasse que as coena mas são transportadoras de determinados grupos. Qued o 5 l. Do aiste a catalise coenzima e substrate achara-se aiojados no centro at vio da enzima consistindo a reação na remoças de determinado y upo quim um do substrate e sua transferencia para a coenzima ou vice-versa. Vê se portanto que as coenzimas não apenas sofrem modificações e a sua estrutura ao participar do uma reação enzimat ca, mas são des essarios em quantidades estequiametrica-em rela acia substrato. Todavia o lato de as coenzimas existem sendo constantemente recipiladas des labora entre apenas duas formas, permote que uma concentrações de substrato.

Quadra 5.	Cidenzimas riignipos ansious 56	gamiou desigamiem	therentes reactors
Alberta and the second	the control of the co		

COENZIMA	GRUPO TRANSPORTADO	
Adentisma britistato ATP1	Fosfato	
Biretina	CO	
Coenzima A	diction	
Figurian adenosa dinucleoudeo (FAD)	Hidrogémo	
Tetrandrofulato	Carbono	
Nacolinamida aden na dinucleotidos NAD	Hidreto	
Tiamina piectostata (TPP)	Aideala	

Nem sempre el mediata a diferença entre substrato e coenzima. No entanto, um critério diferencial é o fato de o substrato sofrer novas atterações nas reações metabolicas subsequentes, enquanto a coenzima, através de outra reação, votta à soa forma origina. A reação que modifica a coenzima e a reação que restaura sua forma original são cata sadas por enzimas diferentes e especificas, que têm em comum apenas o fato de utilizarem a mesma coenzima. Aiém disso na ma or parte das reações, a ligação da coenzima à enzima precede a ligação do substrato à enzima.

Em a guns casos, a coenzoma encontra se cova entemente "gada à molecula enzimatica consultundo portanto, um grupo prostetico da proteína em outros casos la coenzima é tima molécula ""vie" recimino-so a cozima apenas no momento da catá ise. Di as noenzimas i ransportadoras de hidrogenio podem servir como exemplo das duas prissibilidades: a flavina adenina dinucleolidio (FAD) aparere sempre como grupo prosiético de enzimas, enquanto a picotinam da adennia din inleotid o (NAD) i é geralmento livre, podendo atuar como coenzima de di vorsas enzimas (Figs. 5, 7 e 5.18).

A estrutura química das coenzimas é bastante variável. Algumas coenzimas, como o ATP e a GTP (guanosmá trifosíato), são integra mente amtetuadas pelas células. Outras apresentam em sua molécula um componente orgânico que não pode ser sintitizado pelos anoma a superiores. Esse componente, ou um precursor imediato, deve entác ser obtido atraves da dieta, constituindo uma ortamina. As vitaminas são, por anto, compostos orgânicos indispensáveis ao crescimento e funções norma sidas animais superiores e que las concránio de carboidraros, proteinas e ipidios, são requendos na dieta em pequenas quantidades (microgramas ou imbigramas diários), já que são precioses de coenzimas, cuias concentrações celulares são oburto pequenas. Na Microbiologia as vitaminas, no pero se entre os compostos que, genericamento, são chamados vitaminas, no pero se entre os compostos que, genericamento, são chamados

interes de crescimento assinalando a necessidade de sua presença no muiri de cultura para o desenvo vimento do microrganismo. A necessidade desses compostos varia com a espécie. Escherichia con, uma bacteria comum no frato intestinal humano, e capaz de multiplicar-se em uma solução contendo apenas uma fonte de carbono (guicose, por exemplo), uma fonte de nitrogênio NH, por exemplo le alguns sais minerais, é portanto, capaz de sintetizar todos os compostos necessários à sua manutenção e reprodução, inclusive aquelles que para os animais superiores constituem vitaminas. Ou las espécies bai (enanas necessitam vitaminas, aminoácidos, bases nitrogenadas, etc.

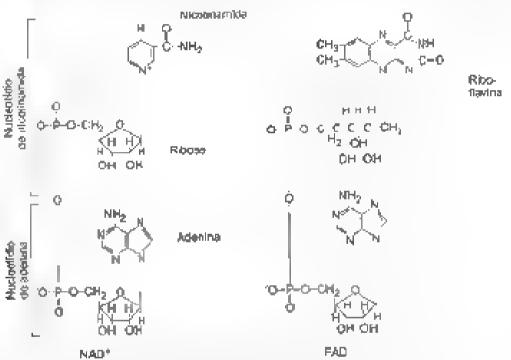


Figure 5. 7 Establic deduar com mas la replinam de admina disublectido (NAD i inflixora admina dimertes ado (FAD). Cata nuceptido e comado por uma pase nitrogulado, um a naces e con grapo tertido.

As vitaminas são classicamento divididas em hidrossolúveis e aprissoluveis. São hidrossoluveis hiamina iviramina B,), riboflavina B,), ácido pantotênico (B_W, nicotinamida (B_W, pindimina (B)) biotina B,, ácido tolico B_W, cobalamina (B_W, e ácido ascérbico (C). As vitaminas A, D, E e K são lipossoluveis. As vitaminas hidrossolúveis são as que têm função de coenzimas ou fazem parte de moléculas de crenzimas. A participação das vitaminas lipossolúveis nas reações metabólicas é muito menos conhecida.

Figura 5.18 Reactes de exidentes can lata adas por envirtas cue téminate los EAL comesce paras le substitución de la cacada de percentados la inicia de la géneral actual comercial de la cacada del cacada de la cacada del cacada de la cacada de la cacada de la cacada de la cacada del cacada de la cacada del cacada de la cacada del cacada de la cacada de la cacada de la cacada del cacada

(reduzido)

5 8 - Medida da atividade enzimática

(nx/dad/o)

As medidas de concentração do soluções expressas em unidades de massa por unidades de volumo de uso corrente na Quimica, não têm aplicação para soluções enzimáticas, jó que para estas o que importa não é a massa mas a atinidade. Uma solução do envimas desnaturadas conserva a massa protéica mas a propriedade catal nea está perdida. Desnaturações parciais podem lovar duas sonições de mesma concentração enzimática a ter atividades muito diferentes.

Em virtude di exposto, a dosagem de enzimos é sempre feita atraves da medida de sua etimitate que é ava indo peio velocidade da reação que a enzima cata isa. Dada a especificidade das enzimas lessa medida e possíve miesmo na presença de outros proteinas. Para efetuar essas dosagens. Uma amostra da solvição contendo a enzima é incubada com concentrações altas de substratos ipara garantir a velocidade máxima e impedir que pequenas var ações na concentração do substrato possam ateiar as medidas). A velocidade da reação é medida e expressa em linidades Internacionais. Lima Limidade Internacionais. Lima Limidade Internacionais. Lima Limidade Internacionais. Lima Limidade Internacionais. (U) é a quantidade de enzima capaz de formar limol de produte por minuto em condições otimas de medida (p.H. temperatura etc.), especificadas para cada caso.

A medical da atraigade enzimitica e imprescindivel para montional a punificação de uma encima. Quando se pretende pulificar de a cocinia do al se o processo de solamento a partir de um materado de celaras organ ou lecido e cutrato curiar. Ismando uma amostra desse e frato desse se deteminar à stritdade da enzima de interesse em Unit geramientes e a quantdade rotal de cinidades presentes nois i una total de extrato y a a adetar ons pa arregio que permita a e nopalação, con outras preparações e cam etaplac posteriores de process, de par ficação é pecessario usar um referencial, a referência baliquanti ente un mana e a concentração total de proteina presente na pri paragas. Det ne se assimi a chi utadi especifia ini sepa e mi mero de all manuts de envir, la por mulgiama de prote na Princessada a porto es diapa en direção à pueste ação da enzima sas feitas novas medidos de airo dado s de concentração de proteina, el piediada a posta atra da 16 septembra de aleta. pa de purmicação. Em bem sucedida, a aby dans experimes enconhaça dese aumentar, hace aumente ognifica, natu almente, que o procedimento adotado e improve proveness indoso acus. Nos se processos de puri cação são etricados alle qui mole su ride all'alatti. Pade especifica un preparação torna se masima e constante indicando que a escima esta bura

5.9 Classificação e nomenciatura

Pelas regras oficiais de Cassifi, ação e home e eta a las envirmas são di vididas en seis grupos, de acordo o o o , pe ac reação que catale am Quedrings to cada um desses grupos dancar subdividado em dasses o sibo accenumeradas de las folica que cada escuba los sea ser identificada som ansiegra dade. Assimi por esconção, a e u mai que catadas a remoção de metrore e etanic) com acts, un a condecredatase, e designada a ces NAD es direcci fine 11 | de Frzyme Comyssion e accebe c numero de ciaminação EC Essa tomescato a oficial é na pratica mo las ceres desobecerdo em favor we owner mais simples ou que se torouram e assi os. Assim por exemplo, a envirua, idada que latalisa a osidação do etanos e a promiente referida como ativos de adregentes, la entirma que nata ma a sentese de gla ogunto, interalmente designada UF Provincia, logica de Digue adirent cesa e la dismada qui ogene spriges. Contro se se ogssen exemple e na nomenclatura ascar o nome é dado indicatios, a substituto segundo de uma outra palas es terminada em ase que especialica o tipo de reação que a enzima catal sa. Meim ressa forma simo, qu cada de nomenciatura apresenta exceções, ciemo é o caso das enomas digesocan payment to promote supernovames to come townstam security as assume after as regras sistemáticas de cuisar aça le el mendatura inserti estaba reidas. Aposte disso não e nacessario mem socar os nomes das encimas país, com um pouco de pratica, e possiviel prever a nume da enzima conhecendo-se a reação que ela catansa, ou vice versa

Quadro 5.2 Jassinardo das enzimas segundo a Entimo Comission

C LASSE	TIPO DE REAÇÃO
E = Oxidorredutasés	Oxidorredução A + B \leftrightarrow A + B
2 Transferases	Transferência de grupos a x + b +> a + b +>
3 Hidrolases	Hidzónse A·B + H _e O ↔ A·H + 8 OH
4 – Lusses	Adrężo de grupos a duplas ligações ou remoção de grupos, deixando dupla ligação X Y 1
3 – Isomerases	Rearranjos intramoleculares X Y
6 - Liguees	Condensação de duas motéculas, associada à hidrólise de uma ligação de alta energia (em geral, do ATP) A + B ↔ A B

Leituras complementares

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. Bioquienies Basics. 24 odoção Rio de junctio, Guanaba-7a. 1999

LEHNINGER A. NELSON D. L. COX. M.M. Principles of Biochemistry, New York, Worth Publishers, 1995

STRYER L. Biochemistry 4 ed. New York W.H.Preeman and Company 995

VOET D VOET J G Biochemistry 2 ed New York, also Wiley & Sons, 995

HORTON, M.R., MORAN & A., OCHS R.S., RAWN D. SCRIMGEOUR K.G. Principes of Biochemistry Engineerood Coffs, N.J. Nei, Patterson, Publishers-Prenaug Hair, 1993

ZUBAY CO. PARSON W.W. NANCE, J.E. Principles of Blochemistry. Dubuque Wm. C. Brown Communications. Sec. 995

GARRIT R. I. GRISHAM C.M. Biochemistry Fort Worth, Saunders College Publishing 1995.

RETTER P Biochemistry-A Foundation Paritic Grove California Brooks/Cole Publishing Company 1996



CAMINHOS METABÓLICOS

Otto Jesu Crocomo e Luiz Eduardo Gut errez

6.1 - Introdução

Todas as reações químicas que acontecem no conalisto da coluia o poranto são reações bioquímicas são importantes para o aparecimento e consnuação da vida soure a Terra, mas ha algumas que historicaniente apresentam maior importand a Énicaso das reações da renmentação de carboidratos, mais especificamente de hexoses, que Gavillussac em 1815 representou para seguinte equação geral:

Na rea idade, a reação bioqui mica representada por essa equação engloballuma sérve de reações intermed ár as etucidadas, graças à describuita polios inmãos Burbher nos finais do século passado em cálillas de Jeveduta, de enzimas que seriam responsáveis pelo processo fermentativo, e aos exaustivos trabalhos de Parnas, Embden, os Com, Loro Mevethoff, Marburg o maitos outros pesquisaciores, na primeira metado deste seculo. A degradação de gitores nos nusculos dos animais e a lermentação alcobida em los iduais são semelhantes, o que facilitad a visua ização das reações. A bioquimica comparado auto iou grandemento o as ango dos conhecimentos nessa área. Esses resilitados foramcoproborados com o aso de tecnicas, sotopicas em levedura por Krisid ANO. WBS) HE MER I taxendo com que se estabelecesse detrectivamente a sequencia de reações bioquimicas que recepció no ne de glicolise, ou seia, a moiecuia de bexase, representada peta glicosa) e cindida (Jisis, cm um deforminado) momento na série de reações inicialmente ha formaça i de aquear fosfornado. seguindo-se seu desdobramento alcitriosefosfato, o qua isotte exidação produzindo finalmente piruvato, produto ona da glicól se

6.2 Processos de obtenção de energia

6. Grichille ou va de Embren-Mamas Meverno:

Compating metabolic daigh also environs assistant

1º fese Posforilação do açúcar

No time do seculo assecto de trabalhos de Cenicia non alom para o fato de que extravos de vedira conto de cui no esde açue resperimentes en elementes en estado pares de sel valo problem. Obse do se posse de la cincipação e que producto a actual o stando que que se de se de basto asquere que producto a ante de que estrator do mara actual trabalhos espadas en que genio a procese la codor. En mada estada Centra estado a producto de menos la codor de mada estado de menos de alta estado de como recipio de codor. En mada estado de encora en que existe em esta a como estado a Observa se por entra essa en entra se a total de em los educar que estado en los educados en Comerca se por entra essa en entra se a total de em los educados en como entra entra entra entra el como entra entra

Agree so his to the second glores fit has estede Reformant please may be a compared to the respect to the second groups of the compared groups of the compared groups of the compared Compared to the compared groups of the compared Compared to the compared groups of the compared to the c

A ene ma speciale dues formas luma fost inteda l'estienza la claim. nao tostorilada defostoenzima

A. A fostogra ma transfere e grapo fos au para a molecula de glacese la tostavo grodia. El se que oscilabili losti fe

Shoose fosfato + tosfoenzima ↔
gicose 1,6-difosfato + defosfoenzima (6.2)

B. A de islamizaria reagalenting as seriold instato

, cose- .6-d:Instato + detostoenz-ma ↔ glicose-6-fostato + fosfoenz-ma

(6.3)

Segue-se, então a -somer-zação de glicose-6-fosfato em trutose-6-fosfato (éster de Neuberg), catalisada pela enzima tostohexoscisomerase. Fig. 6.1)

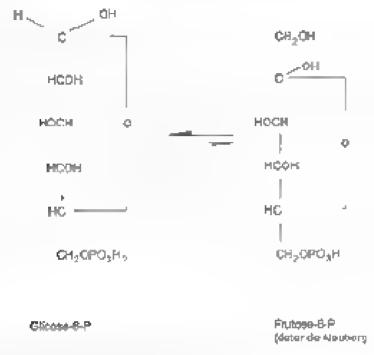


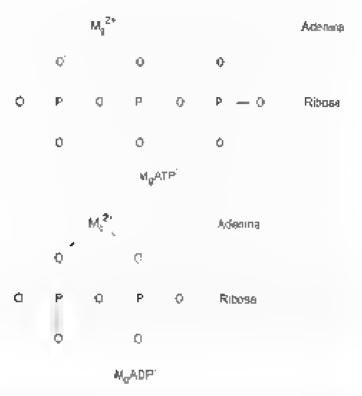
Figure 6.1 Isomenzação estre glicose - foxíato e frutese o exfato.

A formação dessas duas tostohexuses pode dur-se lambem pela transferencia de tostato da motecula de adenostria introstato. A I P) para a motécula de gircose ou de tro ose pela ação de hexoquinase em presença de tons magnésio.

Chaose + ATT
$$\leftrightarrow$$
 glicose 6 + istax + ADF (6.4)

O equilibrio da reação desiona-se no sentido da formação dos esteres fostorilados entretanto experimentos com giicose-6-fostato. Ci a guicose-10 indicam que ela é reversível.

Hexoquinose exigo Mg - porque um dos componentes. ATF) da reação não está sob a comunida ATF e sim no de complexo MgATP (Fig. 6.2)



Rigura 4.3 Comptext MgATP

Por outro lado glacose e tosfate sotre isomerização produzando frea tose-6-tostat apela ação da enzima losfoglacom itaxe. Essa reação envolve a migração do exigenir carbonifico do C 1 para o C 2 exige lambem ions magnesió e é prontamente reversível.

Glicose-6-fosiato ↔ frugose-6-tostato (6.6)

Uma lez tormada trutose 6 fostaro converte se em frarose 1.5 difeo de tester de Harden-Young), em presença de ATP e ions magnésia em uma reação catalizada pela enzima tosfofo tropionase.

2 tase Desdobramento do açúcar fosforilado

Graças à ação de inutose dinostato aldolase, ou simplesmente aidulase la frutose 1,6-ditos ato é cindida em duas mineculas de triosetosiate. Sistem droxiacetoria. Libitat e gioceraldeido 3 fosfaro. Libitat lagrogo são tombio das, essas quas 1 tose fos mos entram em equilibrio entre su em presença de fosfotrioseisomerase.

Frutose 1,6-ditoafato ↔

a idroxiacetoita ausia/o + galce, aldeixa-3-inisfato

Essa reação é a lisão da motécula original de nexose que to il list iritada nos C 1 e 6, e então chivada para formar as a moléculas de triescriosiaro las quais na realidade são motéculas de gliceraldeido 3 fos ato, uma liez que as reações posturiores dependem de GA-3P e, portanto lesta molécula e que será desassimilada donde formação a ácido 3-tostogues co.

3.º fase - Oxidação de triose-fosfato

Needham estudou a oxidação do 3-cistog iteraldoido om colutas de inusculos e Meyerhoff, e também Creen, em músculos e cérulas de evedura Travallios posteriores ao Negele nie de Warburg demonstraram que a oxidação processa se em duas etapas in cialmente a moiécula do GN 3P dá formação a 3 fostoglicer i festato também denominado ácido a 3 difosfog reéricos L3 DPCA, em impresção catalisada pola envirma desido genas de gli procedido 3-fostato e que exige tostato inorgan no e dimulicado de minormada-aden na oxidado. NADI A oxidação da forma aldeido de é orecedida pela sua fosfor iação, com formação de um ester trolico como intermediario. Glutationa trinciona como grupo prostetico da desidrogenase de GA »Pil que e uma enzima. Stil Desse modo, a oxidação de mosefustato pode ser viscanzada na Fig. 6.3

Figura 6.3 Codação de triosefosfato

Pasa é uma das reações giliçotificas inde incorre conservação de energia a qual posteriormente aparecera sobla forma de A. P. Observe-se que durante a reação o grupo a deido da U.A. 3P sofre desidrogenação, produzindo um antidudo carbosflico com elácida fosofrico. Pil incistato norgânico. Esse anidade é a 3-tostogliceri dos atolique é um acil fostato com a talenergia til reido foliroses pacitações (ΔG) = 1.8 k.a. mol) tocalizada no C. de sea o ofécula. A. El

gação tostórica do UR e de baixa energia sivre de hidrolise padrão, cerca de 3,2 keas, mol.

A enzima gi ceraldeido fosfato desidrogenase tem poso milleguar igual a 140 000 e contém 4 subunidades identicas cada uma consistindo de uma cadela polipeptid da simples, com aproximadamente 3% residios de aminoacidos. A enzima é inibida por indocetato, que se combina com os grupos. Sid essenciais da enzima, in binacia. A descuberta dessa inibição e um dos mais importantes marcos ha biscoria da e ucidação dos passos me abólicos comprometidos na glicólise e no processo formantativo.

Na segunda etapa la enzanta fostog desoquinase na presença de fonsimagnésio, catalisa a la exercisca do grupo de hosfato não de energia para ADP recuperando a energia sob a forma de ATP. Ao mesmo tempo los nalese e acido 3-fostogueérico (3-PGA):

Essa reação mais a que a precede constituem um processo de acopia mento bioquimido de energia.

Nos estudos ocuars la gliconse Embaen observou que extratos de muscu o eran capazes de metabolisar 3-PCA com formação de proparte e fostoro morgânico. Essas observações roram seguidas pelas de Lulianan e de Magerhon que solaram o acido 2 novoenolpiravivo como intermediamo nesia reação.

A formação desse ácido losterilado acorre pela eliminação de agua e desvio do grupo lossorico da posição C 3 pala a posição C 2 na ocutêcula de 3 PGA. Postulou se, então lo comproviou se que em extratos de evento a 2 PGA se do graças. A ação da enzima fostos icenomo tase que requer o ácido 2.3-d lostosicencos (2.3-DPGA nomo coenzima (Fig. 6.4).



Figure 64 - Esquerra da conventão de 3-PGA em 2-PGA

4.º fase Formação de piravato

A formação do produto fina, da gueónse, pizuvaio, e precedida pe a τεmoção de ama moiécula de água de 2 2°UA, catalisada por enolase, produzindo fosfoenolparavato (PrPI em presença de tons magnésio, em uma mação com geração de composto fosfatado r co de energia

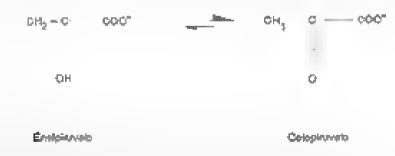
2-fosfoglicerato
$$\leftrightarrow$$
 fosfoenolpicuvato \leftrightarrow H₂O
(\land G' $=$ + 0, 44 kçals/mol) (6.10)

A energia livre de hidronisc padrão de PEP é de certa de 14.8 kca. en quanto que a de 2-PGA e de cerca de 4,2 kcal. A perda da motecula de agua de 2-PGA determ na uma red stribuição de energia dentro da motécula, chando uma motécula com a ra energia. En que é aberada quando o grupo fostato de PEP é posteriormente hidrofisado.

A enz ma enclase possur peso molecular igual a 85 000 e exige ions magnésio, que tormam i micomplezo com a enzima antes da união com o substrato. A enzima e imbida por ions fluoreto o fostaro: na rea idade o ion illuorfostato une-se ao magnesio, formando o verdadeiro agente inibidor. Entretanto, ions manganês podem substituir os ions magnésio como co-tatores da enzima, e nesse caso não ocorre a inibição.

Finalmente, pe a ação de quintise pirovica, fostoenolperoraio iransfere seu grupo fosfato neo de enegra para o ADP com formação de eno pirovisto e ATP em presença de ions magnésio e polassio

A forma enolica de partivato sofre um rearranjamento rápido e ná lichzo mático para produzir a forma cetónical cetopirovaro), que predomina em plit 7.0 (Fig. 6.5)



Regura 6.\$ Review umento lao enzimatos entre as formas ensista é letenca follosofici.

O equilibrio dessa reação des oca-se para a direita el por ação de massa a reação de quinase pirúx da eldirectionada para a formação de cetopiculado dando uma reação global assim representada.

Fostocholpiruvato + ADP + H
$$\rightarrow$$
 cetopiruvato + A P
 $\Delta G^{o} = 7.5 \text{ kcal/mol}$ (6.12)

A reação processa-se em presença de ions potássio c magnésic ou manganês. O cievad i valor da energia li vire padrão dessa reação é devido, em parteao fato da conversão espontânea da forma enolica do pirturato para a forma cotoniça suerca de metade da energia i vire padrão de hidrónise do fostoenolpiruvato; 14,8 km (moi) é nic aperada como ATT - 73 km, moi) sendo o restante (7.5 km, moi) utilizado para directonar a reação para a direita tima vez que em condições fisiológicas esta reação é essencialmente ineversive?

A sequentia geral das reações bioquímicas envolvidas no processo glico lítico, e apresentadas acima, esta vibua izada na Fig. 6.6.

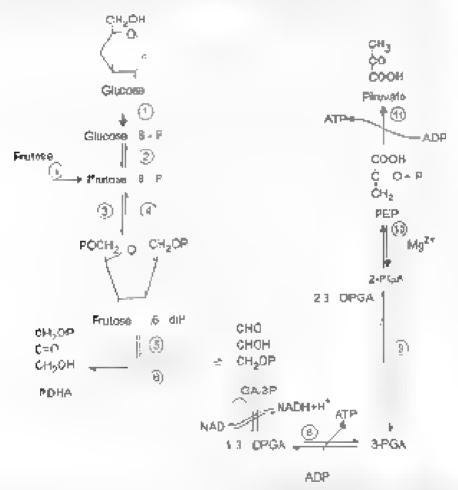


Figura 6.6 Esquema graduto / Emiros - hexogonese ul rostonesosesomente ul tostofo equatisse 4 for rave la rostonia o tostogo ecogoniuse 91 tostogo e contragante de moseconico la fostogia ecogoniuse 91 tostogia e contragante 10 jendase i l'inquitase provida

6 2 2 — Fermentação alcoólica

É um processo anaerobio para produção de energia, que ocorre com de gradação de carboidratos e tormação de etanoi e CO, como composios principal.

pais e como subprodutos gueeral, acidos paros es específico e alchois superiotes. E rea izada por ievecuras, princapa mente do genero Sacciaromyces e bactérias como a Zymomonas mobilis

A sequência das reações é a mesma apresentada na Fig. 6.6 do procusso gluntifico até a intriação do piruvato. A partir de piruvato as seguintes realições ocorrem.

Ação de descarbosálase piruvica

COOH

CO
$$\longrightarrow$$
 CO2 + CH3

CH3

Acetalde(do

A descarbox, ase perúvica exige pitofostato de hamita. TPP) como contator e a atividade o prejudicada pela presença de sulfito, pols este destro TPP. A enzima não é a lamente específica atuando subre outros celos cidos.

A enzima é mibida por sulfido porque o acetaldeido forma um composto de adição com o arion HSO,

FEFTO PASTELR em mer, anaerobio ocorre decrescimo na produção de etanol e redução de consumo de açucar. A explicação mais acuita e dava pela atividade da fostefrut iquinase, envima alosterica da gricólise, que é ni bida por ATP e citrato, presentes em maior quantidade no meio acrótima a acuada por AMP. ADP e assato morgânico.

EFE TO CRABIRFE para algumas revoduras al as concentrações de aqueares imbem a atividade de enzimas respiratorias e a tormação de miscondrias, ocorrenda pertan o ploquião de etanol mesmo em meio aeróbio.

TORMAÇÃO DE CLICEROU durante a fermentação alcoólica cerca de 5% do açúcar consumido pode ser convertido em glicerol a partir de um desvio da fosfod idroxiacelona da glicólise:

CH ₂ OH	СНуОН	СH ₂ OH
C-O + NADH + H+	→ CHOH →	CHOH + Pi (6.15)
CH ₂ OP	CH ₂ OP	CH ₂ OH
Fesfodudroxiacetona	Gliceroifosfaio	Glicerol

A formação do glinero durante a fermentação a coó ica foi explicada por NORDSTRI M^{ost} como consequencia da produção de hiomassa pelas leveduras pois é am processo oxida ivilique exige NAD oxidado e lambém por O' RA(3) segundo o qual la formação do acido succinico ser a a principal causa da formação do glicerol.

FORMAÇÃO DE ALCOOIS SUPERIORES, durante o processo de biossantese de aiguns arminoácidos como va inal treonina lleucina e isoleucina são produzidos celoácidos intermediários como descrito por vinias INGRAS ANI. Ocurse descarbox lação e redução desses ácidos pela descarbox, ase pirúvida e desidrogenase aicoolica com produção dos a coois como esquematizado.

Leucina	→ alfacetoisocapióico	s isoamilion
Valima	→ autacetoisovaiénno	a isohutilizes
SOLUTION	 a faceto betamentivaterios 	amilion ativo
Treonina	⇒ a facetobutimos	a-propilico

FORMAÇÃO DE ACIDO SCICCIMICO: o ácido succiniço e formado du rante a fermentação acceóida atraves da lase uxidativa do ciclo de Krebs

Piruvato → Acetil-CoA

Oxaloacetato + Acetil-CoA → Citrato

Visocitrato

Visocitra

Como em meio anaccóbio não há lormação de in tininhimo ativas, o desidrogenase succipita não apresento a vi dade e portanto acumula se succipita

6.23 - Fermentação lática

As bac érias la ocas no mofermentativas como Lactobaculus aridophons.

Intis a deservo kui Streptoroc les incresophiles e Pedinocules nameosas fermentam y lonse frotose galaciose manose lactose com produção de ái do la locaravés da sequência glicobiles il ome o meio e anacerbico há necessidade do regeneração de NAD pela desidrogenase latica.

No caso de galariose, as bartérias láticas fostorilam ale galactese-6P em seguida é sumerizada alé tagatosi-6P los infalia alé tagatose 1.6-a. Ele cindida has frioses tosoidordexiacetona e glicoroldeido 3P

No processo heterolermentativo pode ocurren dependendo da especie envolvida produção de tactato, etnos, gas carbônico e acetato. A tormação de etano pode ser esquematizada pelas reações

Alguns subprodutos da termentação lática, como acetaldeido, acetona, acetona e diacer lisão importantes para o aroma em alimentos produzidos com essas bactérios. Acetaldeido origina se do prinvato e nos aminoácidos aspartico metionina e treon na diacetil e acetoma são produzidos a partir de citiato.

6 2.4 Fermentação acetona-butanol

A fermentação de acticares con produção de acid, built co foi describerla pur PASTELP em 186 (COTTSCHALKIE). De modo geras apenas anacióbios obrigatorios como Costrutum são capazes le formar acido hutimeo como produto principa, da fermentação.

Algumas espécies de Clostridium como Clostridium aretotratyricum, são capazes de produz r pequenas quantidades de butanol e acetona como pode ser visto nas passagens.

6 2 5 · Formação de metano

Outro processo anacióbio interessante e a formação de metano pelas bautér as metanogen cas como as Mulhanolucter um Methanocrecus. Mi nanosarema e Mathanoroba , que conseguem obter energio a partir dis substratos hidrogenio mo ecular, gas carbônico, acido termico, metano, met lamina e ácido acético, dependendo da espécie

A formação de t. La partir de metanol e H. está acupidad, em Malhano. sazona tarkeri, com a formação de ATP peta ATP sintase

Exempins de capacidade energética de algumas reações.

$$CH_3 - OH + H_3 \rightarrow CH_4 + H_3O - \Delta_3 = 26,9 \text{ kcal}$$
 (6.16)

$$CO_2 + 4H \rightarrow CH_4 + 2H_2O \quad \Delta_F = 32.4 \text{ keal} \quad (6.17)$$

Meranxmo de Entrer Doudoroff 676

O processo gi colitico ou de EMBDEN-PARNAS MEYERHOF descrito ontor-ormente è encontrado em considerave, nu mero de organismos, microrgan emos vegetais e animois. Porem, há microrganismos como Pseudomonasarcarhophda Alea igenes en rophus Rhaobaum municipa Xaathomenas masson. Thiobacillus ferrocraficis que apresentam o i ro mecanismo para a degradação de açüçares, mecanismo conhecido como de ENTAFA-DOLDOROFE FD). No çaso da Estiericha de pode ocorrer a presenca das duas vias em função do substrator na presença de giscose nontre ghoôlise e na prevença de giuconato a via de Eninez Doucoroff. Esse mecanismo é encouverdo em grande numero de bactémas gram negativas

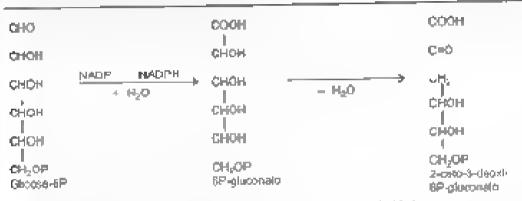
Como pode ser observado na higi 6.7 la guicose-6P é desidrogenada ate 6% gluconato, reação que covolve a presença de NADP e água. Em seguida. 6P glucopato é convert do em uma molécula de gliceraldeid i 3P e uma da pir ruyato, atraves da ação das enzimas desidratase e aldolase. Gheerald∞ do∺3P c oxidade até piruvato pelas enzimas de processo glice il co. Limponto inter-sisante para destaça, é a produção de ATP, enquante ha secuencia guicoffica e rendimento liquido e de 2 ATP, mo cie glicose, ha Eminer-Di udi coff é de apenas I ATP moi de glucose

Existem muitas enzimas comuns aos dois processos, sendo que as enzimas chaves do processo Pomer Doudoroff são

6P- gluconato desidratase 2 - ceto - 3 - deoxi 6P gluconato aldorase Dua metodos podem ser utilizados para dotectar qual processo à décula esta utilizando para a degradação de aqueares

Métudo 1 coletar as céculas crescidas em guense, extrair as enzimas é detectar as atividades. Se náveis elevad is de 6P-g inconain desidratase e 2-coto 3 deoxí 6P guiconate aidolase e baixos niveis de fostofrutoquinase forces encontrados, trata se de um organismo realizando o processo ED.

Método 2 comparando se o processo gileo (Fig. 6.6 nom o processo FD. Fig. 6.7 nota se que o corbono carboxídeo do acido piruvien na glicór se origina se dos carbonos Re 4 da gilicos e enquente no processo FD originaise dos carbonos I e 3 da gilicose. Assim o método de radiotrespirometria utilizando guesse com os carbonos . Re 4 radioat vos pode ser utilizado para esse diferenciação.



SP-forfegluconate desidratase

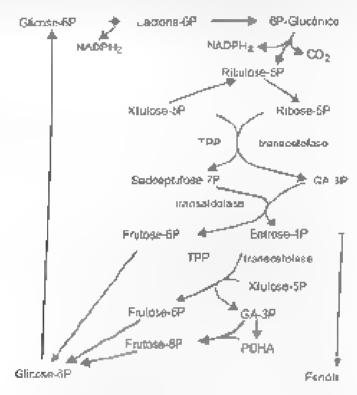
Acão da 2-ceto-3-decid-SP ghiconato aidokise:

Figura 6.7 - Processo Enther-Doudoroff

6.2.7 Processo do ciclo das pentoses

A maioria das celu as de microrganismos, vegeta sie animais utilizam o ciclo das pentoses. Fig.s.8) para a produção de pentoses necessárias para a formação dos nue extideos dos ácidos nucléidos. ATP coenzimas, etc. alem da formação de NADPH + Hil para os processos biossantéticos.

Alguns microrganimos como Thiobacilhis novelles e Bria ella abortus sac deficientes em enzimas chaves dos processos ghoobhoos e ED, entretanto crescem em meio de gucose. Essas bactérias util zami-se do ciclo das pentoses, desviatido guceraideido al para axidação até piruvato e posteriormente do ciclo de Krebs para a produção, de energia acopiado ao minisporte de eleirons. Também há a possibilidade de lucirição de aceta o como ocume na Griconobio tribactéma acética que apresenta o esco do Krebs operando pareia mente.



6 glucuse 6P + NADP → glucuse 6P + 6 CO₂ + 12 NADPH

Figure 6.8 Cido des pertoses

6.2.8 Processo aerobio

Os organismos que se utilizam do ocio de Krebs (e-clo do ácido citrica des acidos incarboxí (cos) para a produção de coenzimas reduz das para a autem resperatoria e de o impostos precursores para as bios oceses são mais eticientes no prodesso de obter energia a partir da gilicose, podendo acido respensa obtenção a partir da degração de acidos graxos e am noacidos.

Para a operação do ciclo de Rrebs a partir de porte ato há necessidade da reação citicas de ativosção com a rermação de acesto como ma A. Dicomplexo

enz mático da piruvato oxidase, que exige is co-fotores NAD, convento A printestato de hamma, acido i puico e magnésio, converte piruvato em ace el-CoA conforme a reação.

Piruvato + NAD + HS-CoA
$$\frac{\text{Acide lipture}}{\text{TPP}}$$
 $\frac{2}{\text{Mg}^{+2}}$ Aceti-CoA + NADH + H⁺ (6.19)

Aceta CoA pode a non ser termado a partir da betacxidação dos ácidos graxos e da oxidação de aminoácidos

Componentes do ciril de Krebs como affacetoglo arato e oxaloacetato são precursores para o sintese de glutamoto e aspartabil respecii varnente. Sur ciril do Alé precursor para a sintese das perfimhas

As reações do Lon Lac Richs Hava o sumar izadas na Fig. 6.9

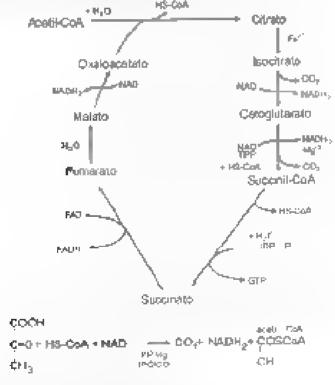
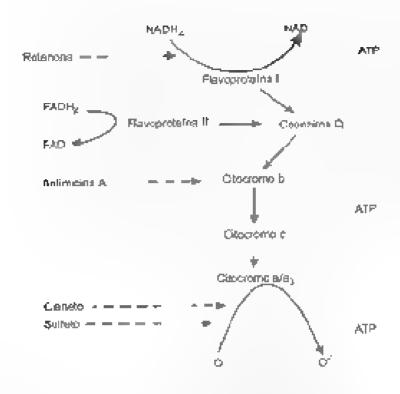


Figura 5.9 Cicle de Krets

As coenzumas FAPH le MADH + H isão reoxidadas do processo do transporte de eleirons acopiado a resformação com adva conforme esquema apresentado na figió di Devi se chamar atenção para a necessivame de algumas vidaminas do complexo Bipara a 1 gração dos coencimas actantes no processo aerópico de obtenção de a tenga el actual NAD i hara na (TPP), riboficação FAD), acido par totopeo (coenzima A



Desacopladores: Arsenato, Dicumarol, 2.4 Dintrolanol Groxina

Figure 6.10 — Cardea respontora unasporta de metrons e fesforlação condutiva.

6.2 8.1 — Bactérias acéticas

Ae bacterias acéticas do genero Acetobacter são organismos estritamente aeróbios, que obtem XIIIº a partir da oxidação do etanol até acido acético

As ochzimas reduzidos são transferidas para e foctomos da cadera respiratório gerando força profonmotiva para a formação de ATP. O acido acomo é excretado podendo atingir concentrações elevadas no meio por exemplo de 100 grT em condições ideais de oxigenação.

So etanol não esta mais disposit eu o ciclo de Krebs passa a operar de modo completo e o ácido acético pode ser oxidado até gás carbônico e agua

6.3 - Biossintese

63 I - Carboidratos

Bactérias e leveditras em meio ausente de turboldratos como acetato glicero i hidrocarbonetos e ácidos glaxos são capazes de producir carboidra dos utilizando-se do cinto de gricantido para formação de succinato, e absidade de gliconeogênese com as enzimas reversiveis do glicóuse como pode ser observado nas Figs.6.11 e 6.12.

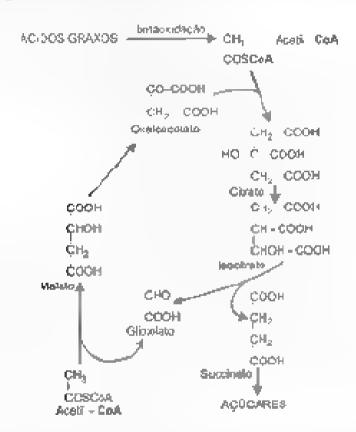


Figure 6.1 and a grown are

A treavose idissacian decină a redulor constitut de por dicas iniciades de glicose unidas pelo il arbodo anomerico e um carboldrati com função de proteção contra agentes estressantos e de reserva nas células virgeta vas de leveduras e esporos de fungos

A broseintese de trea lise é realizada pe as enzimas sintetase de trealose. Ple trea lace-Pitosiatase a partir de guidose inoma esquematizado

Ação da hexoquinase e fostoglucomutase

(6.23)glicose-6P ≯glicose-1P Ação de pirotosforitase (6 24) guense-1P+ . TP → UDF-glicose + 174 Ação da sintetase de traxose P (6.25)UDP glicose : glicose :6P → trealose P+UDP Ação da treatose-P tosfatase (6.26)Freatose - P → treatose + Pi by two odd 9990 Appliato Aeldos grazos (Spin) do فالماء عباد Succinato Furnaraio $H_{\alpha} \Theta$ Opedoscatato Malato 🖈 MAUDI MAD GTP 🚔 ون ن PEP

> 2P-GA 3P-GA *+ ATP

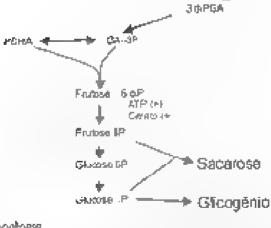


Figura 6.12 - Globneogénese

6.3.2 - Acidos graxos

O sistema para sincese de acidos graxos sa inados a partir de acet #CoA está incalizado no citosso. A acetil-CoA enzima alosté ica anibida por acil-CoA de cadela longa é a primeiro passo para a sintese produz indo malonii. CoA a partir de acetil-CoA e exigand o ATP e biolina, sendo ativada por catrato e frutose 4.6-4 P

Acehl-CoA + CO₂ → malonil-CoA (6.27)

O complexo enzimatico da siniciase de ácidos graxos real za a condensação do malora e exige que o radica acidesioja igado ao grupo suificiala da proteina carregadora de grupos anil. ACPL de modo semelhante ao que ocor re com a coenzima. A. Resumidamente, o processo pode ser esquematizado com as seguintes passagens.

But n)-SACP retorna para a reação (0.28) para mais uma incorporação de maionil e o processo se repete até a formação de ácido ministico (14 carbo nos) ou ácido palmitico (16 carbonos).

6.3.3 Poli-OH-alcanoatos

Cucose → → → Acetil-SCoA

São polameros produzidos principalmente por bactérias com a função de reserva de carbono ou de energia. A produção é estimulada em determinadas comoções, como por exemplo a deficiencia do o trogênio, o pode atingidade 80% do materia, celular seco.

Bactérias de gênero Alrahyenes sau capazes de product po I OH bunrain a partir de glacose e sacarose o gênero Bunkhoideria a partir de glacose filialese sacarose e gliconado e Rhodococcas raber produz um copolimero de pocadroxíbutorale com 3-OH valerado, mediante a adixão de ácido propionico oo substrato constituido por glicose oo sacarose segundo o segundo esquema.

NADPH + H*

Polymerase

(6.33.)

POLÍMERO

Por OH buticate 6 um po imero do Di il beta OH bi tirato com peso molecular entre 60 000 e 250 000. É considerado como reserva de energia caracteristica de procaricios como Alcangenes entrophus Atorobacter chimande But has megaterium decatomonas matemorans, Rigidas pertum rahrum Schperattiis natinis, pac los de mode geral cibacierias fototropicas. Acumula se vai cele as, como granguos gerganos por memoranas, em condições de deficiente a de nitrogenio. As realiões de sintese estar apresen adas na sequência.

+ NADH $2CH_2\cdot CO\cdot 5C\circ A \rightarrow CH_3\cdot CO\cdot CH_3\cdot CO\cdot 5C\circ A \longrightarrow CH_3\cdot CHOI+CH_2\cdot CO\cdot 5C\circ A$ beta-OH-burital-CoA Acetil-CoA - AcethacethicumA -POLICH-BUTINATO

Referencias bibliográficas

Citadas.

- I. K. SELAND. No. R. A. ST. FIMER, E. & Journa, American Chemical Society. **™** 6 3 8% (38% (95)).
- (2 NORUSTROM & Yeas: growth and governs formation Acta Chemica Scandenavica. v. 20, n.4, p. 1016 1025, 1966.
- 3. B. RA. F. Reaction prinducts of mast ferming none Process Brochemoscry 3. p 9 (5, 1977)
- 4" WEBB, A.D. NGRA, IAM J.L. FunctiOn, Advances in Applied Microbiology 5. p 7-53 963
 - "S CANTUS, CA K Bay or al metabolism 2 of Nova York Springer error 1986

Recomendadas

CROCOMO O Transformações metabólicas em microrganismos idat. Buit. Posqu Tecn. E. Paraná, Cumiba, PR. 1967.

"HNING ER A. Principles of Brochemistry Nova York Worth Publishers, 932.



CINÉTICA DE REAÇÕES ENZIMÁTICAS

Walter Borzani

7 I - Introdução

A vanética de Reações Enzanaticas é la rigor lam caso pa licular da Cilinética Química. Seus objetivos são

a) med ir as velocidades das transformações que se processam

blest idar a influência de condições de trabalho como por exemplo concentrações dos reagentes e das enzimas, temperatura, pH concentrações de atriadores e de iníbidores) naquelas veino dades.

 c) correlacionar quer por meio de equações empiricas quer con meio de modrilos matemáticos) as velocidades das transformações com alguns dos ratores que as afetam

d) colaborar na otimi zação do pri cesso c insiderado.

ci estabelete, unitérios para y controle ou processo

f) projetar o reator mais adequado

Esses obietivos i resumidamento apontados i dispetisam comentarios advicionais rela i los à imporiância prática desse estudo.

Em um curso de graduação não cabe um estudo aprofundado com visas ao exame de todos os casos conhecidos e de todos os importantes pormedores noreates a sistemas complexos. Visa se tão someose estidar algune Casos semples, com il principa inhietivo de adquirir e consolidar conhecimentos fundamentais indisponsaveis a fultiros disenvois mientos. Os interessados em um estudo mais completo poderão consultar a literatura indisação no final deste capítulo.

7.2 - Medida da velocidade

Considerence o casi em que em solução aquosa um dado substrato do formula molecular y é transformado em produios de tormulas moleculares P_{∞} , for em uma reação datal sada por uma enzima de fórm da molecular E Esquematicaments

Como exemplo, poder amos citar a decomposição da agua oxige iada em água e oxigên o na presença da enzima catalase.

$$H_2O_i \xrightarrow{Stidiot} H_2O + \frac{1}{2}O_i$$

O printiciro problema que se nos apresenta, ao pretendenmos estudar a cinébica da reação, e a medioa de sua velocidade em condições experimentais conhecidas.

Suponhamos que soja possivel, no sistema que nos interessa medir a concentração do substrato ou de um dos produtos) durante o desenvolvimento da reação a partir de seu inicio, casais medidas conduzirad a curvas do i por das representadas na Fig. — Essas curvas nos mostram que a velocidade de interior du substrato ou de sormação do producivos confectos que o sistema se encontra que o distema se encontra. De fato, du rante o desenvolvimento da reação i mosmo mantendo-se i instantes a temperatora i o p.H. a concentração do substrato decresdo e a foncentração da casa dia tevando em con a sua labilidade também pode diminim consideravelmente, sem esqueder que, em muitos casos, os produtos comados podem atuat com, o no cores da ação catalitica da enzima.

A rigor portanto, o anico instante em que as condições experimentais são conhecidas e e aista ité inicia. For esse motivo la velocidade da reação una mática de e ser calculada, sentipre que possivei, no listante li 0, obtendo-se assimiliada dade altera que se constante do se bitrato que formação do produto por Fig. 7 li

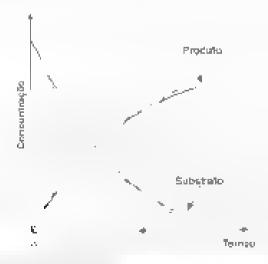


Figure 7.1 on ... Ass. τ 3: 98 cultivações 9 fisicalo e la productificada de velocidades no injunto e e das velocidades inicas (t=v)

Multas são as reações enzimát cas cujas velocidades iniciais podem ser determinadas, desac que se tomem os devidos cuidades experimentois. Além da á cultan decomposição da agua ox genada, podemamos estar la tito o de exemplos la vidre ase da sacarose cata, isada pela invertase e a bidró ise da urbia, catalisada pela urease.

Ha porém, casos mais complexos, em que a velocidade iniçia, não pode ser medida, ou porque não existe uma téculo experimental que permita acompanhar as variações das concentrações no sistentale in estudo i u porque a transformação não pode ser representada por uma equalito quin ca conceagentes e produtos bem definidos. A velocidade da reação nosses casos o frequentemente representada por uma mondade nocida de consumo, ou de produção de substâncias convenientemente esculhidas (ver Fig. 7.2 ou aunida de variação de uma proprieta de 6.1 s. stema in acosidade nextura absorbancia etc i em um interva o le tempo pretixado. O amotecomento de cames pela ação da papa na é um exempto de processo enximatico em que não ha condições de medir um a vetoudade nocia.

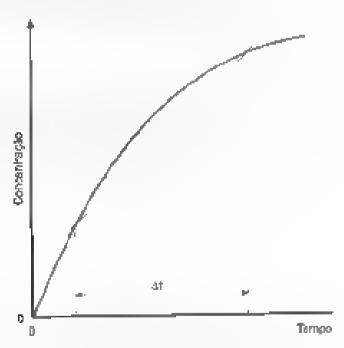


Figure 7.2 — Meria, da recordado medir de inmega, ix pri culto acindo as indicas i no tempo da

7.3 – Influência das concentrações da enzima e do substrato. Lei de Michaelis e Menten.

Consideremos uma dada reação enzimatica cuja - locidade micial pode ser determinada experimen a monto. Imaginemos varios ensar si diferiado, um do outro apenas pela concentração oucha, do enzoma. A experiencia mos-

tra que dentro de costos amites, a velos dade da reação e proporcional à concentração da enzama (Fig. 7.3).

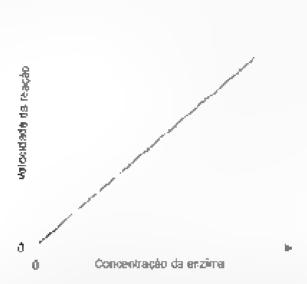


Figure 7.3 Reprintmental menunciation de la filia de la concentração de comma de lichadade de mação.

Se porém las ensalos realizados difecirem entre si aprilias policiomentra ção in cial de subsiliato, a velocidade inicial da reação será pretada como indica a Fig. 7.4. Em outras palaviras a circula obtida e análoga à que se observir em tenómenos em que norre sau ulação, a velocidade da reação é unição crescente da concentração do substrato até um determinado valo i diresa concentração, mantendo-se praticalmente constante para concentrações de subsulato superiores a esse valor.

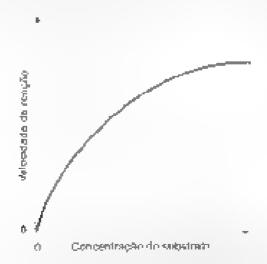


Figure 7.4 — Representação esquentativa da m^a énda la locum laças de sobilha la referedade da locum

O modelo cinético de Michaelis di Menten in actida hoje, um dos mais acestos com o objetivo básico de explicar a influência das concentrações inicia- side enzima e de substrato na velocidade inicia, da reação enzimática. As his póteses básicas desse modelo são:

a lo substrato e a enzima reagem reversivelmente entre si formando i m composto intermed ario denominado complevo enzima substrato:

b) o complexo formado eo se decompõe los reaga com quata substância, regenerando a enzama e tormando os produtos da reação.

Consideremos e case mais simples possive) carecterizade pelos se guintes pontos.

a la tormação do complexo enzima substrato se da na prope ção de 1 moi de substrato para 1 moi de enzima, produzindo - moi de complexo,

bi o complexo formado se decompõe sem reag ricom outras substâncias existentes no sistema.

Esquemancamente, teremos, em um dado instante (

$$\underbrace{F}_{+} + \underbrace{S}_{+} \xrightarrow{\Sigma} \underbrace{F}_{+} \underbrace{F}_{-} \xrightarrow{\Sigma} \underbrace{F}_{+} + \underbrace{F}_{-}$$

seption

 $k_{\parallel}=$ ronstante de vulocidade de tormação do complexo

k = constante de relocidado de dissociação do complexo

 constante de velocidade de decomposição do comprexo formando o produto

o= velocidade de formação do produto

s= molaridade inicial do substrato

c= molaridade inicial da enzima

x= molaridade do complexo no instante (

Podernos, então, escrever

$$\frac{dx}{dt} = k_1(c - x)(s - x) - k - x - k_3 - x \tag{7.1}$$

Admitmoti lo que é muito comum na pratilla, que a concentração do substrato é muito noi or que a da enzima e portanto, muito mator que a do complexo podemos desprezar viem o ação a si Aleg 17 h sera, então

$$\frac{dx}{dt} \wedge (e^{-x})s \left(k_2 + k_3\right) x \tag{7.2}$$

Suponda a mas, que após um regime transiente micia muito curto da ordem de alguns microssegundos), a concentração do complexo se nantem constante (hipotese de Bugga e Haidane), isto é dix d =0 a eq. (7.2) fornece

$$\chi = \frac{k_{b} \cdot e \cdot s}{k_{b} + k_{b} + k_{b} \cdot s} = \frac{e \cdot s}{K_{m} + s} \tag{7.3}$$

sendo

$$K_m = (k_2 + k_-)/k_+$$
 (7.4)

A eq. (7.3 permite agora calcular a ve ocidade de formação do prodiato

$$v = k_3 \cdot \mathbf{z} = k_3 \cdot \mathbf{e} \frac{s}{K_m + s} \tag{7.5}$$

O máximo vator da velocidade sera alcançado quando toda a enzima se encontrar na forma de complexo, isto é quando x=e Indicando-se rom v essa velocidade máxima, teremos v = k, e

Logo a equação (7.5) nos dara

$$v = V \frac{s}{K_n + s} \tag{7.6}$$

que é a equação de Michaelis e Menten, representada na Fig. 7.5.

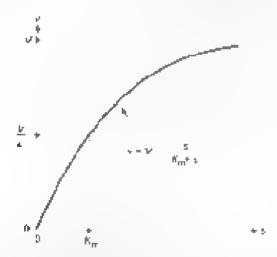


Figure 7.5 - Representação esqueros — e provad de Michael la Mente

A constante K_n denominada constante de Allobae, e da enzima ∞n , se gundo alguns a itores, constante de Michaelis do substrato, ou ainda constan-

te de Michae is do sistema enzima-substrato). é a concentração de substrato a qual corresponde uma velocidade igual à mende da maxima. De lato, tazendo $\kappa = K_m$ na esparção (7.6, resulta v = V/2. A tab. 7 - retine alguns valores de K_m

		· adeal · · I	ANOLES OF C. LECTIO	0, 8,021
ļ t	ENÆMA		SUBSTRATO	К,,
	invertase		Sacorose	GJZP mals
	Urease	1	Jréia	0.025 mal. L
	Catalase	1	н,о,	0.025 mols L
	Amilase		Amido	4,0 g/L

Tabela 7. | Valories da un restador de inchazira

Se a constante de velocidade k for muito menor de que k_0 , a eq. (7.4), dará:

$$K_n \cong \frac{k_2}{k} \tag{7.7}$$

sto é. K_a será meste caso praticamente igual à constante de equitabrio de dissociação do complexo ES

Quanto menor tor o valor de K_{ω} maior será a afinidade da enzima pelo substrato.

A determinação de K_e e V a partir de valures experimentais d*e s e r* pode ser efetuada linearizando-se a eq. (7.6)

Para canto um método muito atitizado, chamado método de 1 meweaver Burk, consiste em inverter ambos os membros da eq. 7 6

$$\frac{1}{n} = \frac{1}{V} + \frac{K_m}{V} = \frac{3}{5} \tag{7.8}$$

Essa óltima equação nos diz que 1, v varia inearmente com 1/s. Os coeficientes I near e angular dessa reta são iguais a $x + e k_x / k$ respectivamente.

Tendo-se os valores experimentais de sie os correspondentes valores de v de rermina-se por regressão inear os valores de $1, v \in K_n$, V el consequentemente, $V \in K_n$ (ver Fig. 7.6).

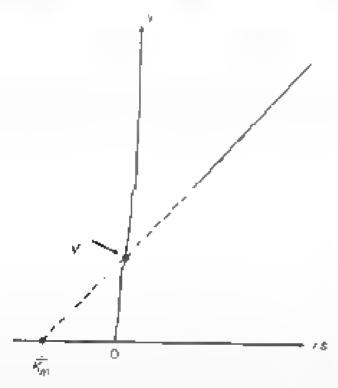


Figure 7.6 — Representação esque valua ou determinação do Meió, pelo metodo de impresiver och-

A near zação da eq. (7.6) pode ser realizada por outros metodos, alem un de Lineweaver-Burk já citado. Fazemos referencia apenas a mais um deles, o metodo de Hanes, que consiste simplesmente em mult plicar por sambos os membros da eq. (7.8)

$$\frac{s}{c} = \frac{k_m}{s} + \frac{s}{V} \quad s \tag{7.9}$$

Neste till mo metodo is a varia hodarniette com sie os coeficientes line ar e angiliar eta correspondente são respectivamente iguats a K_m $N\in \mathbb{R}$ ν

Qualquer que seja o metodo atriviado, ama boa determinação de $K_{\rm m}$ e V requez anto quidadosa a ra isclustaristica dos valores experimenta s.

A titulo de exemplo, consideremos os valores da Tabi 72 que nos dá em uma reação enzidade a velocidade micia, de tormação do produto para diversos valores da concentração inicia, do substrato (ventig. 77)

Tabela 7.2 - Veb, relate nego to romação do proocito con turcuro da interestração necel de substrata

_		
e(g/L	alg/L b)	
0.25	0.78	4
0.51	.,25	
1.00	1.66	
2,52	2 19	
4.35	2 15	
7 25	2.59	

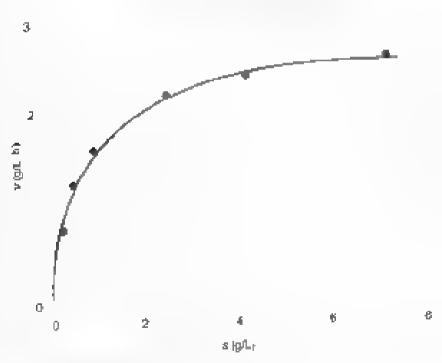


Figure 7.1 Representação globaldos ratores la fluoda la

Se apucarmos, aos valores da Tab. 7.2 o metodo de Lineweaver Burkle o de Flancs, obteremos os resultados representados, respectivamente has Figs. 7.8 o 7.9

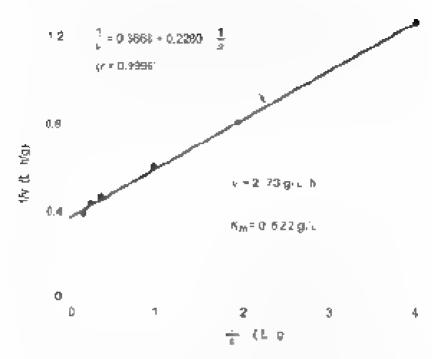


Figura 7.8 — velem roção de kiniki polo metado de linewezaer fainti quisado nos valores da Tabela i ∠ queconfidente de conrelação).

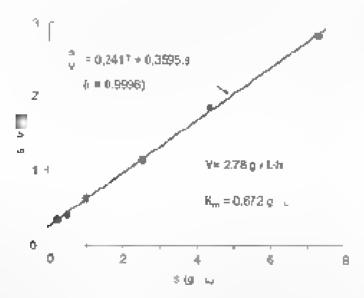


Figure 7.9 De el minação de Nigrit, peix inercede de naries no noto aos ratores la T_{ab} e (niecoeficiente de correlação)

Resta nos examinar a ordem da reação enzimárica em di as situações particulares.

Se a concentração do substrato for muito menor que K_+ isto é se $K_+ + s \cong K_-$, a eq. (7.6 nos datá.

$$v \cong \frac{V}{K_m}$$
 s

isto é la reação se comporta como se fosse de primeira ordem

Se porém a concentração do substrato for music ma or do que Km, de modo que Km + s = s teremos pela eq. 7 6,

ou seja, a reação se comporta como se fosse de ordem zere

7.4 - Influência da presença de um inibidor.

Chama-se inibidor da reação enzimentos uma substância que acarreta di minuição da velocidade da reação

Quando o mibidor teage irreversive mente com a enzoma bioquican do-a parcial ou lota mente la imbição e do tipo denominado irreversivel. Se porém o inibidor reage reversive mente com a enzima la hibição é do tipo chamado reversivel. Esse u timo caso é o que tem intercase pratico e, por este motivo, será considerado neste atem.

Cumpre destacar que, em alguns casos o mibid y pode ser uma das substàncias que participa da reação, quencimo vubstrato quer como produto. Assem por exemplo, a invertase que catal sa a hidrol se da sacarose folimando guicose o fruiose) pode ser imbida pera sacarose quando osra se encontra presente em concentrações relativamente adas lenguado a altitamidas e que cotalisa a hidro ise do amido produzind i dextimas e manose) é minida pelas dextimas e pela maitose.

Consideraremos entre os muiros tipos de imbição reversivel de reações enzimáticas apenas dois, nibição competitiva e trubição não-competitiva

Comecemos pela mibição competitiva

D.z-se que um in bidor e competi a o quando como o substrato. ocupando o sitio ativo de enzima

Indicando-se com la fórmula molecular do públido e com issua molecular do públido e com issua molecular do públido e com issua molecular do público pode ser representado pelas seguintes equipado qui minas.

$$\underbrace{\mathcal{E}}_{\mathbb{R}} + \underbrace{\mathcal{S}} \xrightarrow{\frac{-1_1}{k_1}} E \underbrace{\mathcal{S}} \xrightarrow{F} \underbrace{\frac{F}{k_2}} + F + P$$

$$\underbrace{E}_{v} + \underbrace{I}_{v} \underbrace{\longleftrightarrow_{E}}_{F} \underbrace{EI}_{v} \quad e^{-s} E + P$$

onde v -velocidade de formação do produto P -é obviamente menor que v -ver itam 7-5), uma vez que parte da enzima está l'bloquesca - oa reação com a mibidor

Ieremos então luma vez que ina prática, spokie apoy

$$\frac{dx}{dt} = k_1 (e^{-x} y) s - (k_2 + k_3) x \tag{7.10}$$

$$\frac{\mathrm{d}y}{\mathrm{d}t} = k_A \left(e^{-x} - y \right) e^{-\left(k_S + k_S \right) y} \tag{7.11}$$

Cumpre destacar que na reação en xe a enzime e e unibidor pode não ocorrer a formação do producto P isto é, pode se ter apenas

$$E + I \xrightarrow{k_1} EI$$

e consequentemente k_i=0

Sendo dx d(=dy / df J (ver (rem 7.3; h)pótese de Briggs (Haldane) as eqs. (7.0) e (7.11) nos darão

$$J = \frac{e^{t-c}}{K_m(1+t,K_m) + s}$$
 (7.12,

sendo $k_{m} = (k_{-} + k_{3}) / k_{1} + k_{2} = (k_{3} + k_{4}) / k_{4}$

A velocidade o, será, então:

$$v = k - \lambda = V - \frac{5}{K_{m}(1 + t, K_{m}) + t}$$
 (7.13)

onde $V = k - \epsilon$

Aplicando-se, na equação (7.13), o metodo de Lineawer-Burk, reremos

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v} + \frac{K_w(1+i,K_v)}{V} + \frac{1}{4}$$
 (7.14)

representada esquemas camente na Fig. 7 .0

A eq. (* 14) pode ainda ser graficamente representada co ocando se em abcassas, a concentração do misidor em vez de -s como nos mostra a Fig. 7.1. Pode se aqua demisiostrar que as relas obtidas para diferentes con centrações de substrato cruza o se no pon o de abcassa. K_- e -rde aqua $1/V_-$

As eqs. (7 6) e f° 13 mos permitem calcular a relação entre as velocidades de reação sem institudor e com initiador.

$$r^{o} = 1 + \frac{K_{m}}{K_{m} + s} r$$
 (7.15)

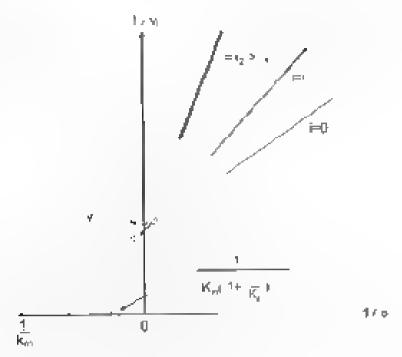
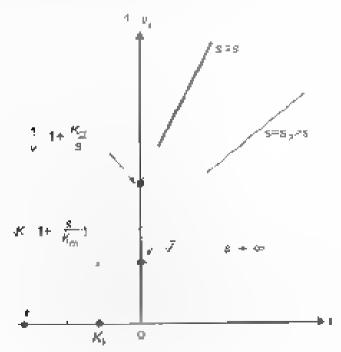


Figure 7-10 Representação estudendo da apudação do mético de uneversem Burillos do usuas demás 30 competitua



Pigura 7. (1) Royal serce au esque resourcis de speciello de hervanció. Euricad l'assiste imbigad competitiva. Determinação da K

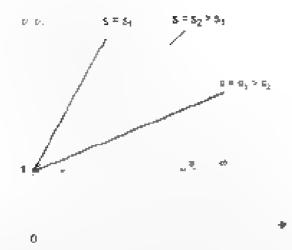


Figura 7.12 - Representação esquental sa liquifluência das licinociónes del debidade de vibidad competitare na relición vár

Essa última equação, representada na Fig. 7-12, nos mostra a influencia das concentrações do substrato e du influência de substrato v o Em particular se for possivel traba har com concentrações de substrato rela vamente al as (matematicamente, $s \to \infty$) a influência do in bidor pode se tornar desprezivel. Essa tendência pode ser também observada no exemple numênco representado na Fig. 7-13, no qua. V=6. 0 mg. t min, R_n =2,50 mg. t e K=1,60 mg/t

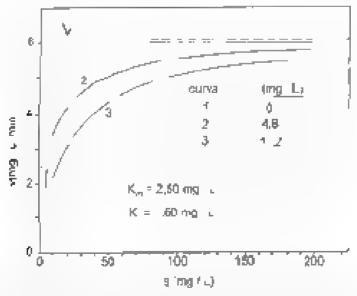


Figure 7: 3 - Exemplo numerico da induencia das concentrações do substruto e do includor competitivo na velocidade da reactio.

Um exemplo de inibição competitiva é o observado no efeito inibidor da gucose na hi oróuse da sacarose itatal sada pela invertase. A imbigao, provocada peta a factextrina na hidrólise de amido catalisada pela alfaamilase. é nutro exemplo de inibição competitiva.

Uma vez examinados os pontos fundamentais da influência de um iníbider competitivo na velocidade da reação enzimática, passernos ac exame de um caso simples de inibição não competitiva

Nesse tipo de inibição, o inibidozinão compete com o substrato pelo sitio ativo, mas vai ocupar outro sitio da enzima "sitio regulativo ou de imbição) como indicado, esquematicamente, a seguir-

$$E + S \rightleftharpoons ES \xrightarrow{e} E + P$$

$$E + I \rightleftharpoons EI$$

$$ES + I \rightleftharpoons 2EI$$

$$EI + S \rightleftharpoons EI$$

formando-se, aiém dos complexos F5 e F1 um terceiro complexo enzima-anibador-substrato (EIS)

A vejocidade da reação enzimática será, neste caso

$$v = V = \frac{K_{-}}{K_{+} + r} = \frac{5}{K_{-} + s}$$
 (7.16)

Como exemplos de imbição não competitiva podem ser citados os efeitos inibidores, tanto da maltose quanto da dextrina limite na hidrolise do amido cata isada pela alta-amilase.

Finalmente, parece-nos aconselháve, examinar o caso de mibição não competitive remeisural ou squi quando o inibidor reago irreversive mente com a enzima bioqueando-a em parte, como acontece quando o inibidor é um meta, pesado.

Sendo la mojaridade inicial do imbidor o indicando com 20 a molaridade de enzima por ele bloqueada, o modero de Michaeus e Menten pode ser tepresentado pelas seguintes equações quim ças

$$E \longrightarrow S \xrightarrow{k} ES \xrightarrow{k} E + P$$

Considerando que $s = r \in s$, podemos escrevei

$$\frac{\mathrm{d}x}{\mathrm{d}t} = k_1 \left(e \quad x \quad z \quad \right) s \quad \left(k_1 + k_2 \right) x = 0 \tag{7.17}$$

Logo:

$$y = \frac{(r - 4)!}{k_m + 4} = \frac{18}{4}$$
 (7.18)

onde: $K_{m} = (k_{a} + k_{b}), k_{b}$

Teremos, então

$$e^{-} = e^{-} + = (e_{x} - e_{y} - e_{y} + e_{y} + e_{y}) + \frac{s}{K_{xy} + s}$$
 (7.19)

Considerando que $k_y = V_x$ resulta.

$$v_s = (V - k_s \ z \ i) \frac{s}{K_n + s}$$
 (7.20)

representada graficamente na Fig. 7.14

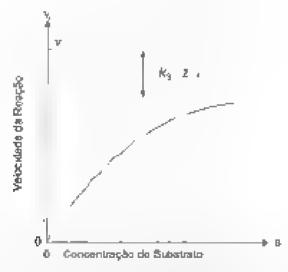


Figura 7-14 — Peninsentação escue lia lia list illuêro e da concentração do substruto na vinocidade da inação na presença de lize hibidos iso-nombicados que reago interpresentement com alensans.

A aplicação do método de li neswer-Brirkia eq. (7.20) nos dá

$$\frac{1}{n} = \frac{1}{n - k} + \frac{k_n}{k_n} + \frac{1}{V - k_n} = \frac{1}{s}$$
 (7.21)

esquematicamente representada na Fig. 7.15

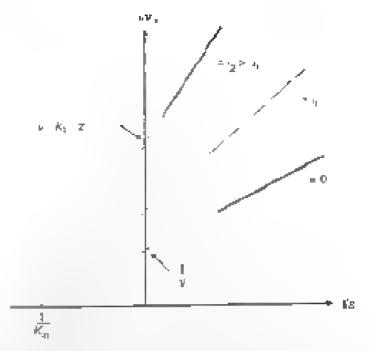


Figure 7 5 Representação escuemarca da epintação co metodo de universaver Sark so caso da 1 exp. da especia em que en que extrao excuesta em que extrao excuesta em como exemplos en entra parte el entrar exemplos estados en entrar exemplos en entrar exemplos estados en entrar exemplos en entrar exemplos en entrar exemplos estados en entrar exemplos en entrar exemplos estados en entrar en exemplos estados entrar en exemplos estados en entrar en exemplos en entrar en exemplos estados entrar en exemplos estados estados en exemplos en exemplos entrar en exemplos entrar en exemplos en exemplos en exemplos entrar en exemplos exemplos en exemplos exemplos en exemplos en exemplos en exemplos en exemplo

As eqs. 7.13) e i 7.15) nos mostram ainda que enquanto na imbição nompetitiva a velocidade máxima não é aferada e a constante de Michaelis é multiplicada por um rator maior que 1 na indisção não competit va a constante do Michaelis não é afetada e a velocidade máxima e monor do que v

7.5 – Influência da temperatura

Na reação enzimática

$$E + S \stackrel{\longrightarrow}{\longleftrightarrow} ES \stackrel{\bullet}{\longrightarrow} E + P$$

a constante de velocidade à dentre de certos i mites le função crescente da temperatura do sistema

A expeniência mostra que a influência do temperatura na constante de ve ocidade k obridece a lei de Arrhemi s, representada peta eq. (7.22, e pela Fig. 7.16)

$$k + k_0 e^{-i\beta kT} \tag{7.22}$$

onde o e a energia de ativação. R é a constante dos gases perteitos e T é a temperatura absoluta do sistema

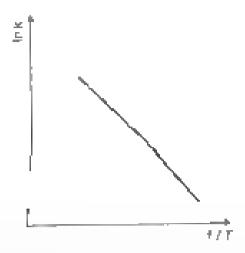


Figure 7-16 - Representação esquerrálista da pareição da consulario de velocidade (A isoniva temperatura absoluta. T

Lembrando, porém, que as enzimas são termolábeis, ao mesmo tempo que ocorre a reação enzimática que nos interessa, desenvolve se também a reação de nativação térmica da enzima que atua no sistema.

E → En2-mp mativoda.

e a constante de velocidade desta reação (k') também e aictada pela temperatura de acondo com a lei de Archenius.

$$k = k - e^{-\rho/RT} \tag{7.23}$$

sendo β a correspondente energia de ativação

A experiencia mostra que enquanto o valor de α se situa no intervaio 4 a 20 kca / mo., o de β e consideravelmente malo/, alingindo 40 a 200 kcal mol

Tevando em conta esses fatos, suponhamos uma dada reação enzimática com α-12 καί moi e β 120 καί moi desenvolvendo-se a 20°C e a 30°C. Tanto o valor de kigi anto o de ki aumentam quando a temperatura passa de 20°C a 30°C, e as eqs. (7.22) e (7.23) permitem calcular esses aumentos en quanto ki (constante de velocidade de formação do produto, se torna aproximadamente 2 vezes maior ki constante de velocidade de nativação térmica da enzima) se roma cerça de 860 vezes maior. Compreende-se, assim, por que motivo a elevação da temperatura acima de um certo valor acarretará devido as altas velocidades de nativação térmica da enzima, diminuição du velocidade de tormação do produto. Cirut-cos como o da hig. 7. 2 representam esse fenômeno.

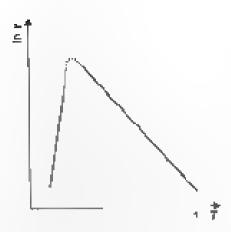


Figura 7.17 — Représentação esquematica da influência da lempe atumisticalism. ™ no indecedade de formación co present las

7.6 - Influência do pH

Partindo-se do fato, bem conhecido de que o pH do meto equoso em que se desenvolve uma reação enzimatica afeia tanido es ado de ionização da enzima quanto a velocidade da reação, pode-se supor que a abvidade catalitica da enzima depende do seu estado do onização.

maginemos, então lo seguinte sistema relativamente simples

- i) A enzima se encontra em três estados de ionização, representados por $F^{(0)}, E^{(0)}$ e $F^{(0)};$
- Somente E⁽¹⁾ apresenta attitude catalitude.
- 3) Os seguintes equilíbrios coexisem no sucemo

$$E_{(0)} \stackrel{\triangle}{\Rightarrow} E_{(0)} \stackrel{+}{+} H_{+}$$
 $E_{(0)} \stackrel{\triangle}{\Rightarrow} E_{(0)} \stackrel{+}{+} H_{+}$

e as respectivas constantes de equilibrio são $K \in K$.

- 4) As movaridades de E^n F E^n e H são, respectivamente $e_{n^{-1}}$ e_{n} e_{n} e_{n}
- 5) A molandade tota da enzima presente do sistema e e Podemos, então, escrever

$$K_{-} = \frac{h - \ell_{1}}{c} \tag{7.24}$$

$$K = \frac{h_1 e_2}{e_1}$$
 (7.25)

$$e = e_{\varphi} - e_{\varphi} - e_{\varphi}$$
 (7.26)

que nos permitemicales la reliconcen ração da fração un eticimo que apresenta atividade catalitica em funça, de $\{c_i\}_{i=1}^n$ contide e total de enzima no sistema e de h e consequentemente, $\phi \circ \rho \to 0$ ou or de e val determinar a velor da de v na eq. (7.5)

7.7 - Comentários finais

No merio deste capricilo tivemos o cuidado de informar que não seriam examinados, aqui, todos os temas que integram o vasto campo da cinética dos processos enzimáncos.

Em particular não fizemos referência aos casos em que se utilizam enzimas impliazadas, cu a importancia dem crescendo consideraveimente lesse assunto sera examinado nos Volumes 2 e 3 dos la coleção.

Outro tópico que por seu potencia, interesse prático vem merecendo atenção crescente é o da ação catallica de enzimas em meios não-aquosos.

A exteratura que indicamos - seguir procesi ser corsi: tada para um pomeiro aprofundamento dos estudos

Literatura recomendada

-) BALLEY E. & DULIS. ω F. Blochemical Engineering Fundamentals. McGraw-Pit N. York (1986).
 - L. DINON M. & WESS, I. C. Enzymes 3. Horalis Academic Press N. York 1979)
- য় ব্যাক্তাই ৰ Biotecnologia de Enzimos Edu oces entremiterias de Volparano de la Universidad Carón ca de Valpurasso, Valparanso (1994)
- a is a first k is R in TNC in S. The Chemical K-netics of Enzyme Action 2^a Edição, Crarendon Press, Oxford (1973)
 - (5) SEGEL in I. Engyme kinetics wiley morscionee N York 1975)



TERMODINÂMICA DE REAÇÕES ENZIMÁTICAS

Otto J. Crocomo e Luiz Carlos Basso

8.1 - Introdução

Hoje mais de que nunca estamos conscientes de que a caergia la capacidade de realizar traba ho, é vital para uma civilização muderna. Nas suas diversas formas elétrica mecânica, qui mica da orifica, forminosa etc. Lé utizada para a manufatura de produtos fru ispecte, aquel miento, refrigeração e demais trabalhos

A célu a vival gualmente necessita de energia para a realização dos di versos trabalhos fisiológicos que ela execula: biossinteses (trabalho químico, transporte ativo i trabalho osmótico, contração musicular (trabalho inclusico) bioluminescência etc

A biochergenica é o campo da bioquímica que trata das transformações e uso da energia pelas células vivas, escando suje ta aos mesmos principios da termodinâm cal mas as peruliaridades dos sistemas biológicos exigem ama abordagem diterenciada como será apresentado no presente capitulo.

Pm senhido ampio, as células fotossintetizadoras e as heterotróficas ala mentamisci mutuamente. As prime ras aproveitamise do CO atmosférico para produzir carboidratos e devolver O ao meio ambiente. As aeterotróficas, por sua vez lutilizam os carboidratos assim produzidos e o O e liberam CO para a atmosfera. A fig. 8 mostra essa interdependência nutricional (sintrofia) ressa tando-se o aroplamento dos ciclos do carbono e do haigenio na biosfera durante a fotossintese a energia solar é transformada em energia química sobla forma de AT. NADPH e carboidratos (gnose), os quais são utilizados pelas células heterotróficas na realização de a indades que consomem energia. A Juzisolar e, em utiliza analise la primeira fonte que energia tanto para células autotróficas como beterotróficas.

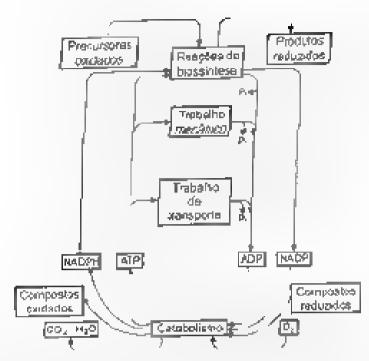


Figura 8.1 Oncludo A. PADEN a transferência de elémens el lutiligên el aranés le système le DEL AUDP

No ciclo biológ co da energia el portanto, no fluxo de energia na biosfe ra, estão comprometidas grandes quai aidades de energia. Anualmento las cojulas totossintet zadoras capturam cerca de 10° cal de energia soiar e aproximadamente 33 y 13"r de carbono finem a ravés do cicto do carbono no biosfera. Esse fluxo se processa duranti e transcorrer do metabolismo, ou seja, durante as reações bioquimiças de degradação do substâncias complexas catabolismo) e de sintese de compostos complexos (anabolismo). As primeiras reações são acrimpanhadas pela Dertação de energia livre das comutaras compiexas de grandes moierquas orgânicas, com a conservação dossa energia sob a forma de ligações ricas de energia do ATP. Por outro lado, nas sinteses enzimáticas de moieculas cumpiexas proteinas, ácidos nucleicos, po issacardecs, lipideos) a partir de precuesores ma samples, ocorre aumento no tama nho e complexidade da molécula levandi a uma diminuição na entropia do sistema, exigindo o fornecimento de energia livre proporcionada por ATP

Tanto catabolismo como anabolismo consistem em dois processos simutaneos e interdependentes. Um deles — o metabolismo intermediano — é uma següência de reações enzimáticas pela qual o esqueleto covalente de uma biomolecuta é degradado ou sintetizado, seus intermediarios químicos são chamados *melabotrios.* Cada reação química do metabolismo intermediário e acompanhada por uma variação no conteudo de energia. Ou seja em certopassos da sequencia catabolica, pode ocorrer conservação de energia dos neusua mente como ATP e em certos pontos das leações anado licas, pode haver necessidade da introdução de energia. Esse processo e

himself a rank of the line of the second second and one of a set to be second as a factor of the second sec

More and the second of all and the second of the second of

The side was the second side of the second side of

8.2 - Principies da Termodinàmica

All the second of the second o and the property of the state o arrived to the tell to be made to the best and the tell to gift in the draw tasker, at read office and provide to the ex-

to her to more demanded by the In a mark to the party of the transfer of the party of th Not not a formal after any any agent formal after the party of that there is a ferrile a state of fall a first a needed have to be gring and grigor above in the disapproximated and artifaction in a strategy of the second . Which produces the department of the section of the A St bules facts a control for a star product the control to see some the herman a read fred f to a state of the state of th the fibre of a sample of galere a sala asa sa masa asa san Landay a terror of the same of age or an in the contract of t gery as a time gare have a first time a first and a six and the second second of the s her the great place of the contract of the part that with the first and the second

Long contracts of a second of the second there is not a first and the complete and the we be I have group at I was the profession of and the first of the second of was or grin or a being A conference programmed a bigger becauses we appropriate the same to the same and a same same the seating that a translate of as trocas na composição material

Conservação de energia

A such that the following the second of the ratherities a serie gar bag a talan my ser at he eyem the encitable assistants and a second ser a hill or est, a diction is to the first so the page tage type a dia to the property are the war arabotics to begin to a report of a gar or as har a set of the first of age

N G t pt a trivery card by at any a 183 majority according to the author a of one territy to a district the second para teach a magazing embersom de la rivera military proposition

dos produtos. Parte de energia pode ser oberada como calor o parte como irabulho masi para uma inantidade tixa do reagente la soma do l'atorici do trabatho sempre será a mesma. Quanti a vamente essas considerações podem ser expressas como

$$\Delta F = E_{\text{first}} - E_{\text{micid}} \tag{8.1}$$

sendo Af a variação na energia quar do a sistema val ou estado in cial para o fina.

om sistema techado pode rea kar var os tipos de trabal to sobre seu piero, dajas quant dades podem sor somadas sobili turino Prij rabalhor quase do então a energia total gista pelo siscenta para fazer y rada pi y em Ac riesmo tempo em que cla vienta sovernado laboral, reasão la) constanta perde energia in the apara para see there. We extended adquire energy sobjects me de calor e 🛫 e partir de seu me o. Nesse case la variação em se a energia intrinseca será o resultado do soma da aquixir limito en energia Q e perdu de energia - We

$$\Delta E = Q - W \tag{8.2}$$

ondo wielo trabadno fizie policiano, mais. Qui catoriatori ma peliciantema. O se nal land a que litado ba ferro pera sistema envolve gasio de energia en quanto o sina 🛨 indica que o calor absorvido pelo sisiema l'epresenta ganho de energia.

Alenery a pode ser trapsferida de um sistema llata la rol seja por licio de fluxo de caler, la primeir de trava la Él reportante to lem monte que a guergia. É lé uma propriedade caracter suca de um sistema. Fluxo de traba ho e da oculações y upriedades de amisiscoma mas construem victos pelos unas a energia è transferida quando ocorre a troca

Apesar da existên, a de muitos tipos de trabalho, en i Quinnea os mais significativos sa la labalho eletrici di realizado pelos gases em expansão. I also be elected pode ser propazicio por celulas e efrequirmes, enquanto que rabalho em expansão resulto de uma varitção no ve ume consistemas envoividos e a usualmente chamadi de traba la pressacio ettime i rabalho Pin

Para qualquer sistema isoter proc. fechado que não realiza exitentrabalho subre sea meio senão aque e que der va de lub expansão temos:

a) volume constante,

$$E\Delta = Q_0$$
 (não pode se expandir;) (8.3)

b) pressão constante,

$$\underline{E}\underline{\Delta} = Q_{p} - P \Delta V \tag{8.4}$$

 Q_{\perp} é o calor absorvido sob volumo constante, quando nenhum traba ho é realizado. Q_{0} o calor absorvido sob pressão constante, quando nenhum traba ho é realiza lo atém do trabalho pressão volume de expansão 🌼 🛆 vio trabalho pressar-vo ame realizado pela sistema sobre seu melo como consequencia da expansão, e AE o aumento na energia intrinsoca

Considerand se tembém todas es outras rormas de trabalho (W1) a primetra lei pode ser assim escrita

$$\Delta E = Q - P \Delta V \cdot W' \tag{8.5}$$

Entretanto se W=0.

$$\Delta F = Q - P - \Delta V'$$
 (8.6)

Essa expressão da primeira lei é a mai sitifil aos qui micos

8.1.2 — Entalpià

A energia in moseca (F) de antis stema e um atributo que depende do estado presento do sistema, e ama função de estado. Não se pode meditio liabor de E de am sistema fechado em um estado qualquer, mas e possivel medir se a diverença entre os l'alores que E adquire em do s'estados, obtendo-se ob-Isso porque sob $T\in \mathbb{R}$ conscions, $\Delta F=\mathbb{Q}+W$. As yeas polas quais essa variação tem lugar podem ser varias e, om cada uma delas 💪 e Witém valores àni-COS

Sob pressão constante o valor de Q pode ser calculado a partir da equação.

$$Q_d = \Delta E + W \tag{8.7}$$

e, então.

$$Q_{-} = \Delta f + P \Delta V \tag{8.8}$$

Como a energia y a ide um estado 1 para um estado ? la Eq. (8.8) pode ser assi mireescrita.

$$Q_n = (E_2 - E_1 + (PV_2 - PV_1))$$
 (8.9)

que nos dá

$$Q_p = E_2 + PV_2$$
 (F₁ + PV₁) (8.0)

Desse modo in calor associado com um processo que ocorre sub pressão constanto pode ser obtido pela diferença emize dota termos a + PN

Oral Q_{\pm}^{-} e uma função de estado el portanto ipade ser expressa como a I ferença ous vacores de uma propriedade de es ado em e os estados loxo. alle fina if o que indica a Eq. 8 10. A forção (+ / V recebe o a mbo - H. e e chamada de contrado total de calor ou ma pra la sistema. Para um dado processo que se desenvo ve sob pri asac constante, o cator liberado ou absons de cidado pelo termo Alfilque e variação da emalpia do sistema do rante o processo:

$$\Delta H = Q_0 = H_2 = H$$
, (8.11)

H e ma função de estado e pode ser expressa em ter nos de E / e v sendo ada om deles tambem uma tunção de estado

Se sob condição de Piconstante, ca prio liberado no mejo, o sistema deve des rescer en entaly a (A) sora negative la real 50 qui rolla é rivancida exoletmica. Se calor e absory do pelo siste na ha obcountente na entalpia. All serà positivi i) e a reação química e chamada de enclete Poica

8.2.3 - Energia Livre

A gamas limitações quanto ao tipo de transformações de energia que no trom em processos quimicos ou físicos são colocadas pela segunda, en da Termodināmika la qual prediziem que direção um dada princessa provava mente se da Essa lei estabo ece que reaques esponiamens são aque no que quando rea izadas sob condições apropriadas, podem readzar translito àb." Fest trabally, uto c'expresso pe'n terror energia vice sugar de por Gabba que a o potenciar maximo do sistema y le com sobil e Picanetames. A variação no valor de G é simbolizada como ΔĠ

Gera mento se supõe que iquando um sistema sobili e il constantes per de calor para seu meio leie também des a estar ser tend a uma manistorin ação espontanca. Se esse tosse nicasci todas as relições i xotéroticas seriai/o esponta neas. Per outre lado, supõu-se também que as reações endi com cas não ocorram espentaneamente. Na reunidade nenhama dessas suposações e corretapois a variação de calos que acompanha ama reação, sob $P\in T$ constantes ou seta Ali não é em si mesma tuno orex, do real do capacidade de ima reação produzir habalho atri Elo sina de sili que l'idica se uma reação é lapar de realizar outro trabelho alem do irabalho P. Su o rilegati in o sistema terá perde de energia livro la quan pode ter sodo los lixada para realização de inshalho. Se for positive a system a tora les el de en egla note le altreaça, não pode realizar trava la . No promo ro laso, a reação e chapo ata de eter la lale no segundo easo de reação e ferencia a la seguitida se portanto, fizique ma maça lospontânea e laracter volta pela perda de energia la rel Fili também precuz que uma resição tomera cima determinada direção, pereminan precizión que v relacció mesma se da al cor anto, oma reaça i soterme a pode ser

exotérmica. Al é negativo. exergônica: AG é negativo, endotérmica. Aft é positivo, endergônica: AG é positivo, Anom ou a conceptual titas sa obrig transmit a exergônicas.

824 Entropia

A far near or the formand a markers believe que no zer absorpt a series a partition for the sections according to the rest of a term only of a control of a section and the section and the section and the section of a section and the section of a president and a president and according to the section of a president and according to the section of a president and a president and according to the section of a president according to the section of the section o

Soft many care of districts the major temperature as a some distriction as one product a memory assume on the major soft temperature. The major distriction is the major temperature as a soft of the pair that constrained in the contract of the pair that the contract of the major that the contract of the pair that the pair that the pair that the contract of the pair that the pa

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \tag{8.12}$$

A secretaria centra a coma angle matematica di varias masses e manangenparate na perioda a calle virensa emanan an a si hi i a secreta que e la calle a massa sobre sa la calle a la calle a secreta de de la calle a la cal

Let proceed totals and there are a dependent in section at more at more than the process residence of the appropriate of the process residence of

Desse modo, em todos os processos, sejam fisicos ou químicos, ocorrendo portanto no sentido de se aumentar a entropia, parte da energia "únil" jaquela capaz de rea izar trabalho e degradada para una orma de energia "inútil" incapaz de produzir trabalho.

8 2 5 implicações biológicas

Da Eq. (8-,2) e da Eq. (8.,3), a qual define enta pia, podem-se extrair cer tas implicações biológicas

$$\Delta H = \Delta E + \Delta PV$$
 (8.13)

As mações químicas dos sistemas biológicos tem logar em soluções aquesas dicudas sob temperatural pressão e unitume constantes quando se ema uma condição na qual APV torna se zero, então AH será iguaça At.. Nesse caso pode se substituir e valor de AH na Eq. (8.2 por AG (Fg.8.4)

$$\Delta G = \Delta E - T \Delta S$$
 (6.14)

Essa equação pode ser então transformado em

$$\Delta E = \Delta G + T \Delta S \tag{8.55}$$

Desse modo, sob T e P constantes, a variação na energia to ai do sistema ΔΕ equivamente à variação no caior lé a soma dos termos T - xS e a variação na energia livre ΔC. A medida que o sistema se aproxima do equilibrio, a energia hivre decresce para o minimo.

Ora, sob condições de temperatir a e pressão constantes no sistema este traca lu remente energia com o meio, não ocumendo entretanto, troga na massa Quando im sistema soire variação que ieva a um equilibrio, a energia total do sistema + meio permanece constante apesar do a energia total do sistema soirabo crescer fo ar constante ou decrescer. Ao mesmo tempo, o sistema pode ceder calor para o meio, ou receber calor do a eno. Ja se sabo por outro tado, que dorante um processo, a en ropia do sistema + meio numenta ate aicançar um máx mo no piorto de equilibrio. A rorça que realmente dirige qualquer processo é a tenuência para aumentar a entropia no intiverso.

A en tupia se de sistema não incessariamente aumenta durante, im processo que se dirigi, para tem equilíbrio. Seu vaior pode a imentar finar constante ou decresce. Su eta decresce centos a entropia do miso devera aumentar uma quar tidade tal que faça com que a soma das varjações da entropia do sistema e do meio aumente. É nique acontece quando os organismos vivos crescem, a entropia do organismo (sistema) decresce enquante a de meio aumenta.

A vida já definida filos: tiramente como sendo tim coo unto de principios que reviste o munio caractoriza-se pela busca e manutenção de estados altamente organizados. Taz organização, seja de moiéculas, organelas, células ou recidos, como formas vivas mais complexas é atingida as custas da energia obtida do meio. A vida pois pode ser entendida como im processo que "luta contra a entropia a desorganização, o caus mexorável.

8.2 6. Vanação-padrão de energia livre

C onsideremos uma reação quimica bimplecular

$$aA + bB \leftrightarrow cC + dD \tag{8.16}$$

Nessa equação, a lt, c e disão os numeros das moléculas de A. B. C. e L. substancias quimiças que participam da reação. A constante de equilibrio k para a Eq. (8.16) é

$$K = \frac{\left[C_{\alpha}^{L} |\mathcal{O}|^{3}\right]}{\left[A^{A} B\right]^{3}}$$
 (8.17)

A partir de conhecimeno do valor de killo valor da variação da energia livre é dado pela expressão.

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln K' \tag{8.18}$$

onde SC? é a variação padrão de energia livre. Seu valor é obtido quando a reação se processa à temperatura de 25°C, e, odos os componentes da reação estão em seu estada padrão. O es ado padrão é uma conocção de referência conveniente na qua, as atividades sac arbitrariamente definicas como unidade para aquidos e sólidos puros, gases a li atm e compostas em solução. em concentração aproximadamente IM Begue-se por anto, que ACº é uma constante para uma dada reação

Deve-suiter em mente que é o valor de AG e não o de AG, que indicara se tana reacad é espontanea est, ão. En relanto las tabelos que se encontram nos textos sempre incluera os valores de AG° porque são quantidades Jefin das. enquanto que AG pode tel qualquer valur dependendo das condições in pli- ζ_{BGBS} had Eq. (8.17) given obtilization to reflete-se had Eq. (8.18).

Quando uma reação atingo o equilíbrio, $\Delta G = 0$. Nesse ponto, a energia nvre é minima e ado há possibilidade de posteriores transformações. L'òtém-se então.

$$\Delta C = RT \ln K \tag{8.19}$$

ou então.

$$\Delta G^{\circ} = 2.303RT \log K$$

Na realidada los valores de ACº são adito os, ou seja la variação padrão de energia tivre de uma reação e a diferença entre a energia-paditão dos reagentes e a energia-padrão dos produtos

a)
$$L+M \leftrightarrow N+O$$
 $(\Delta G^{\circ} = -8.000 \text{ ca. / mol})$
b) $N+O \leftrightarrow P+Q$ $(\Delta G^{\circ} = +6.000 \text{ ca. / mol})$
 $L+M \leftrightarrow P+Q$ $(\Delta G^{\circ} = -2.000 \text{ cal / mol})$

Quantis las med dos de vanação de energia livre de i ma reução são feilas em outros temperaturas que não 25°C, o valor de AG° deve ser seguido da andicação da temperatura. Da mosma torma o valor de AGO e mounheado quando as reações envolvem diterentes valores pH. A var ação-padrão de energia viela pH 7.0 é designada como AC1

A Eq. (8 20) possibilita o cá du o de AG de qualquer reação, a uma dada temporatura, a parrir de sun constanto de equilibilio a qua il determinada por metodos analietaos. Se $k=\mathbb{R}$ então ΔG^* π \mathbb{R} e não exerce qua quer variação na energia livre quando 1 mol dos reagentes e completamente convertido nos produtos, sendo que lodos os componenies estão na concentração 1... M. 5c. K. for major do que ± 0 então ΔG^a sera negativo. Se K it is menor do que ± 0 , ΔG^a sera positivo. Tem-se assimi as reações exergoricas e entre génicas, respectivamente. A Tabil mostra uma relação entre os valores de 46º e o grandoza da constante de equilibrio

Tabels 8,3 Here, as enter-deviate to 4e 30 to a 20%, and defined, faxous 20%

∆(° ¢a)	K
-kd89	0.00
+ 2716	1 F
e 1363	0,1
)	
₆ 3 ₀ 3	61
27 ()	90
4(35°)	000

Os catores da Tabil 8.1 foram cotid is considerando se que em ama ceida viva in equilibrio e atingido porem dagonies e produtos să imanticliis. den re de estrectos cristes em il elocido egune intacion cho, ne nodem ses bastante diferentes dos niveis de equilibrio. Entretanto a energia liberada ou utilizada em uma reação depende da magnitude com que o sistema se desvia. do equiribrio Na realidade luma expressão matemática de AC de uma reação deve então conter dois termos um indicando as concentrações atuais dos reagentes e produtos e outro indicando as concentrações no equi íbrio. Assim, para a reação.

$$aA + bB \leftrightarrow cC + dD$$

temmos.

$$\Delta G = -RT \ln K + RT \ln \frac{|C|^4 |D|^3}{|A|^4 |B|^5}$$
(8.21)

$$\Delta G = -2.3RT \log K' + 2.3RT \log \frac{|C|^{4}}{|A|^{4} |B|^{6}}$$
 (8.22)

que, a 25°C nos leva a

$$\Delta G = -1363 \log K' + 1363 \log \frac{|C|^{c} |D|^{d}}{|A|^{d} |B|^{b}}$$
 (8.23)

No equilibrio la relação entre a concentração dos produtos e a dos reagentes é igual a K e portanto, $\Delta G = 0$.

Logor

$$\Delta G^* = -1363 \log K'$$
 (8.24)

Desse modo, o valor de Δυ lestá relacionado com fil

A Tab. 8 2 mostra uma relação de valores de ΔC° de algumas reações de importância biologica, calculados a partir de medidas de equilíbrio e dos vaiores de energia livre de formação. O AGº de uma reação quimica é igual à diferença entre a soma das energias a vies-padião de formação dos produtos e a soma das dos reagentes, evando-se em conta a estequiometria da reação. Observe-se que na Tabi 8-2 están indicados dois tipos de reações, que se dão com decréscimo especialmente grande na energia avie de hidrólise a hidrólise de anidados (anidado acetico pirotostato, e reações de oxidação. Essas reaches são de grande significado bioquimiço nas iransformações de energia na célula.

- Valores da konação la energa toro quidi so de algumas, enyóci que inves-

REAÇ 40	∆C ² kcai em pH 7.0 e 25°C
Oxidação	
g touse + 60 ₂ + 60,0 ₃ + 61 ₂ 0	686
Peamitate + 230 ₂ → 16CO ₂ + 16H ₂ O	± 2 3,38
HEdrof se	
anidrido acélico + 4 ₂ O — 2 acetato	2: 8
purplostate + H.O. + 2 feafave	8,0
glicose 6-tosrato + PLO -+ glicose + 10:fa a	3,3
glukamina + H ₂ O + glutamino + NH ₄	3,4
secarose + + H ₂ O + glicose + frutese	7.0
Reagrupamento	7 T
glicosc Intertato in glicose-o-fosfato	
frutose-6-fosíato -> gircose-6-fosíato	-0,4
Eliminação	
malato -> fusiarato + H ₂ O	+ 0,75

8 2 7 — Potencial de oximedução

Oxidação é a perda de clétrons e redução é o ganho de elétrons, sendo ambos os processes complementares - m sistema de extraedução (OR hipico pode ser escrito.

rorma reduzida ↔ forma oxidada + n e

onde « é o numero de elétrons ej envolv dos na reação. Se i mieletrido le netal merte (piatina ou pra a. 6 merso em uma sotução de im sistema OR estaboloco se uma diferença de potenção entre os e virens ha soit. ão e os ho meta. Essa condição do noscimento a im potencial de eletrodo. F), cujo valor é assim calculado.

$$E = F^o + \frac{RT}{nF} \ln \frac{|\sigma x|}{|red|}$$

Elle a constante aspecial para um dado siscema conhecida — mo netero al. as example patro in outem payrant. Ria constante air gases is 8.314 [mol K.] y a remperatura absoluta in cipiopere. Je edulo i reptes employados ha reacab y Farar a 4= 95 494 - necessario para un erter legas ajente de um elemento. emilitar e aume de lons le os circolsto loncentrio, es das formas os dada e reduzida do sistema OR

Um electodo prense em an a se ação de um sistema. A filtora e que se confece como sem le utali lap, diferença de potencia, el impossival medir, a que ele cium netrous significas, dura medinal de li se combinado com netra se mice, la li rinarcio ente, con cercia completa. A merença de potencia, entre ambas as semillebrais i medida cimo tando as per meio de impotenciometri. Lara se gergrommar o potential de eletrode de um compost la sa se pretet ou a de hide igen a comit pud acide reterior la iguio potencia e arbitrariamente topradit cimo zero. Pirreminan ha necessidade de se lazer aso de ejetipido de hidrog, no em qual sue medida bosta que se use im ejetrido de construção mais tax illiomo o de il storri lano le qui di terenç il de potençuar in la tiradament te determinada em retichi la serrice dia de hicroger - Consequentemente surgeturn host is more a Fig. and a sindle entending que il eretrodo de compara. cacifis aver do em pliação la lettrado de hidrogen.

$$E_h = E - E_{\ell_h}$$

once Epiganophina session controper in a por definição i erturos il quagad gera ina il electrono do potencia, de am sistema e Rie-

$$E = E \circ_{t} \frac{RT}{nF} \ln \frac{[ax]}{[axt]}$$

O la milita a importanta in sena maios positiva se a propiorção i sa nou a ementar e insilina la la sera milistra galisto la memos positivi i se a solma read a for molor qualla cidada. Quan i no redi i Fig. 15. Connecon do-se o la arribilitade se la classificación de eletrode a la scema em que el quer grasi de l'exidarar ou redaçar. Por outre tado lo grata de oxidação poerser obtido medina - se o perenda, de cietroda

Na Lib 3 Jes à exemplicació varios sistemásticos 8 biológio es Q a City in sister that seems a capture of the seems are seems and as pro-different set. situadi avimi i elema esiava le primisual sezi oracara qua quer si tema menegative qui exer pomanto, situado abaixo de indicisióna 🚿 iscues lesc- ace units also in produces not essente a fini de distributor a su par entre ambies, saiskimus kiri ama reagao enzimatica, da hisma acidi caprages, em zima lubstrate. Ni result, la nole saci called menor quantida e di energi, idea lingual coursers are imbinação da en lima sem inventorable a termina lim minuição na energia de ativação deste último

Note-se que P° refere-se a medidas toitas no valor pH zero, o que frequentemente compossivel Usa se o termo E para nelicar que o potencial de eletrodo-padrão foi estabelecido a amidado liaier do pH

Energia intre das reações de oximedução 8 2 8

Consideremos u na iniscura de dois el terentes sistemas OR, no mesmo pH porem com protenciais diferentes. En la ambris accurrora, má reação, a qua lem um dado momento, at ngirá o equilíbrio, ou seia los dois sistemas af cançaram o mesmo potencia. Como exemplo "omemos o caso do sistema desidrogenase succinica lizar de met leno, processand i se a reação por exemplo, no tubo de Thumberg

succinate
$$\leftrightarrow$$
 furnarate + H₂

$$AM + H_2 \leftrightarrow AMH_2$$

$$Succinate + AM \leftrightarrow furnarate + AMH$$
(8.25)

sendo AM azu «de-motileno e AMH, azul-de-meti eno reduzido lleucobaso). A constante de equilibrio será.

k [fumarato] [AMH₂] [succinato] [AM

Quando as soluções são pristo adas, e sistemo succinato di impirato, tenuc potencia, rua sibarxo, redisz o sistema azus de mebirno e se exida Consequentemente, a relicção fumarato isuscina o aumenta cila reloção ${
m AM/AM/H_2}$ diminui determ nando um arimento de potencial de primeiro sistema e um decrés, mo no potencia do ustimo, alcique o equilibrio e alcançado quando entac ambos os sistemas terão a mesmo polencia (h_{h.l.} E_{h.2}). A temperatura é $de 30^{\circ}C e n = 2$

$$E_{o,(furn,succ)} + 0.03.\log\frac{[f(marato)]}{[successed]} = f - \frac{AM}{AM,AMIRS} + 0.03.\log\frac{AM}{[AMFI]_3}$$

$$\Delta E_{\alpha}' = 0.011 * 0.005 = 0.03.\log \frac{[furnarato][AMH_2]}{[succinato][AMI]},$$

0,006 = 0.03.log
$$\frac{[\text{himarato}] [\text{AMH}_2]}{[\text{succinato}] [\text{AMI}]}$$

Tabela 8.1 — Potenoas de okredução de algunas resições proquimças!

RFAQ \tilde{A} \mathcal{F} escriba na forma de redução	E pl 7.0 (V)
$\frac{1}{2}O_2 + 26T + 2r \Rightarrow f_3O$	+ 1.816
eg " t g → Fg ³	+ 0,771
FZ C +H₁D+N →H₁O₂	÷ 0,30
otocronio a fe²²+1e → citocromo a fe²	+ 0,29
citocromo e Pe * + ve + citocromo e Pe**	+ 0,25
crotocul CoA + 2H' + 2e + buttri CoA	+ 0.19
biquinona + 2H′ + 2e → obiquinona →H ₂	* 0.±0
formarato + 2HF 2e + succinato	+ 0,030
PAQ+2h'+2e +FAQh ₃	u jith
Avaimscento + 2H1 + 2e + malaio	0 112
α octoglutarato + NiH + 2H + 2e → gluramato + Fi ₂ C	+ O _a 4
acetaldeido + 28 f + 2¢	0.163
puravato r 2H² r 2e laztato	090
NAD' + Æf*+ 2e → NADH + H	0,320
NAD9* +2H*+ 7r + NADPH+H*	- 0.20
pureveto « CO₂ + 2FF + 2e malato	3د,0
acetil CoA 257 2c > acetaldeide + CoA	0,41
CO ₂ +2H +2e → formato	5.420
$H' + \iota \iota \longrightarrow \gamma_2 H_2$	-0420
ferreducina - $\hat{r}e^{i\beta}$ + Le \rightarrow terreducina $Fe^{i\beta}$	- 0,432
aceteto + 2F + 2e -> acetaldeado	0,60
acelato+ CD ₂ + 2H + 2e → provido	ω, 2U

^{*} Attraction units is deligible occupantentes exceto in que el mantico en il ordentração $\Phi^{-2}M$. Ou gase, a 1 atm de pressão.

Como as concentrações iniciais dos quatro componentes foram iguais, temos

$$0.006 = 2.0.03 \log \frac{[fixmarato]}{[succinato]}$$

$$\log \frac{[furnarato]}{[succinato]} = 0.10$$

e então:

$$\frac{[fuma.ste]}{[succinato]} = \frac{[AM. I_2]}{[AM]} = .26$$

fazendo-se x = % de AMH₂, temos

Logo, no equilibrio, 55,8% do corante estarão na forma reduzida. No caso discutado, temos

$$\Delta E_{\nu}^{\mu} = \frac{RT}{nF} \; \text{ln} \; K$$

de onde se segue que

$$nF \Delta E'_{i} = RT \ln K' \tag{8.26}$$

Ora, a partir des concettes de Termodinàmica, sabe-se que AG° està relacionada com K

$$\Delta G^* = -RT \ln K \tag{8.27}$$

Segue-se portanto, que

$$\Delta C^* = nF \Delta E_0 \tag{8.28}$$

asso significa que a variação-pad ão de energia livre de ama reação entre dois sistemas OR pode ser calculada a partir da diferença entre os valores ΔF . De maneira semelhante, pode se calcular a variação de energia livro para: sistemas, núviduais el desses dados, caicular-se a valnação na energia livredos sastemas combinados:

$$\Delta G^* = \Delta G_1^* - \Delta G_2^*$$

Na Eq. (8.28, ο valor de ΔΕ, deve ser positivo, a fim de se obter ΔG negativo, ou seja, um valor Af i positivo and caluma reação espontânea

O potencial de redução de uma meia-reação, na qual as formas oxidado. e reduzida da substancia estão presentes em concentrações não padrão, pode ser calculado a partir da equação de Nerost

$$F = F_{*}^{1} + \frac{2r^{3}RT}{\pi F} - \log \frac{[oxicaga]}{reduzida}$$

A 30°C, o termo 2.3RI/F = 0.06 V e, portanto.

$$E = E_{\bullet}^{\bullet} + \frac{0.06}{n} + \log \frac{\sqrt{\text{oxidada}}}{|\text{reduzida}|}$$

B.3 Os niveis de energia livre

Em 927 Eggleton & Eggleton e pouco depois Fiske & Subbarow isolaram creatina di, musculo, essa substancia se apresenta fosforiiada e, tal como a do los ato de arginina que lambem se encontra nos museu os, tem uma etevada energia de hidrolise (Fig. 8.2), lisso significa que, quando a rigação fosfatada se compe liberta energia livre de a to hivel que e utilizada para o processo de contração musquiar

Lundsgaard em 1930 observou que o músemo envenenado por odoacetato ainda era capaz de contração. O lipo de inibição por odoacetatu ja for estudado. Ainda mais, nessas mesmas condições, o rostato de creatina desaparecla no meio. Deveria haver, portanto, uma quira fonte de energia capaz de rea izar aquela ação. Supris-se que essa ronte tosse o traosiato de adenosina-(ATP), que ja Paivia sido isolado de mascalo, por Lohmanni em 1929. Nos ariós subsequentes elucidira se sua es nutura e o A.L. mostrou-se ser um composto rico de energia existente em cela as de anima si plantas e microrganismos, com a funçar de armazenar a energia advinda das reações exergônicas. Fig. 8.3. A energia livre produzida na bidzólisc ác suas ligações, os atadas e tal livada nos processos endergônicos da cérma.

Fosfato da creatina

Figura 2.2 Fosfato de argenina e fosfato de creatina

Figura 8.3 Fiverios de acorecens ATP edenoses Siterioriste ANP adenoverses econido AMP adenosery Si menofodisto (ácido adentico)

Apesar de ser tão importante lo ATP existe nos musiculos em diminuta concentração i ma vez que ele é parte do reservatório de compostos notos de energia tais como os "fostogenios" que são a fosfocteatina nos vertebrados e tostoargimna nos invertebrados. A teação de tormação de fostogenio é a ireação de Lohman i pois foi Lohman quem demonstrou que essas substâncias estão em equilíbrio com ATP.

$creatina + A P \leftrightarrow ADP + tostocreatina$

O va or ΔG° dessa reação é pequeno, uma vez que K aproxima-se da απidade. Isso tem dois significados

- a energia passa facilitiente de ATP para a creatina;
- a reação se dá nos dois sentidos, dependendo da concentração dos reagentes

Há outros compostos que como o ATP possuem também fóstoro abilitos fostatos de unidina de mildina e de guanosina. Esses compostos por hidrónise de seus grupos tostato, abetam energia livre. Se bem que Auriseja o reagente mais comum dentre, is fosfonucteosideos. UTP CTP e GTP (Figs. 8.4, 8.5, 8.6) são também importantes respectivamente no metabolismo de açucaros, ha biossintese de apideose na exidação de ácido o delogianárico.

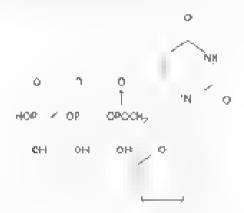


Figure 8.4 — **Fociates de uniona.** \mathcal{F}^{p} = \mathcal{A}^{d} n_{i} 5 introdutes. \mathcal{A}^{p} = \mathcal{A}^{d} n_{i} 5 introdutes. \mathcal{A}^{p} = \mathcal{A}^{d} n_{i} 5 introduces \mathcal{A}^{p} = \mathcal{A}^{d} introduces \mathcal{A}^{p} = \mathcal{A}^{d} n_{i} 5 introduces \mathcal{A}^{p} = \mathcal{A}

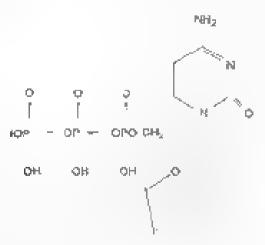


Figure 6.5 Postatos de ididades en incoma a informa a informa a información de en estado de es

(8.29)

Figure 8.6 For/atos deguanos de CTP - quanque a 1 milos fico (ADP - guanos is, 5 infoculto GMP - guano) sina-Si-monofostato (acido guandifico).

Note-se que, nas tórmutas estrutura s indicadas, o sinat (~) indica ligação rica de energia Essa ligação é tombém encont ada em outros compostos, fostatados ou não. A Tab 3.4 most a os valores de energia haze padrão de hi drólise de alguna compostos tostorilados.

Tabela 8.4 Energy inem-patristing indrolls are composited killfortation

COMPOST)	∆G° (kml'
Ginerol E-fostate	.20
Guicose-6-sossate	» ₩
Frutosi-6-fosfato	J.MI
Citurose 1 Enslate	7-,O(T
ΑTI	T 741
Fostoargir no	<i>7</i> U
Acet Ikisfato	10 0
Egymereálima	10 30
3-diffustogacerato	s 80
Fostoenolpiruvato	148,441

83 Energa livre de hidrólise do ATP

A modada da energia livro de badarques de ATP deveria ser realizada, em princípio a partir da eq. (8.30), utilizando-se à Eq. (8.27).

Entretanto na pratica la medida dizeta da constante de equilibrio dessa reação é diferendada, principalmente porque os metodos analíticos disponíveis. não são suficientemente sens vers para determ; nar o momento em que o equiibrio ou alingido el coosequentemente, as concentrações de ATE ADP e Pi nesse ponto. Isso se deve ao tato de que ino equilibrio, quase todo o ATP é hidrongado a ADP e Pi 👵 il zamos, então, a natureza aditiva dos valores de Aun de reações consecutillas, medingo a energia livre de hidró ise do ATP a pH 7.0 a 37°C e na presença de excesso do Mg 27° fazendo-o reago com glacose na reação de hexoquinase. Nessa reação são produzidos ADF e glico se-6-fostato.

ghcose + ATP
$$\xrightarrow{\text{becominate}}$$
 ghcose 6 fosfato + ADP (8.31)

Fin segunda mede se a constante de equilíbrio e o valor de ΔC° da fil ϕ r ϕ ise de giudosc-6-fostato, cara, isada por fostatase

glicose 6 - tostato
$$H_1O = \xrightarrow{postphine}$$
 glicose + tostato (8.32)
(R = 171, $\Delta G_2^2 = 3,30$ kcal)

Somando as Eqs. (8.3 - e. 18.32) term-se a equação da hidrólise de ATP Desde que os valores de AC º de ambas as reações são ad livros, pode-se calenano energia l'ore-padrão de ATP

$$\Delta G_{ATP}^{''} = \Delta G_{A}^{''} + \Delta G_{2}^{''} = -4.00 + (-3.30) = -7.30 \text{ kcal}$$

A reação é extremamente exergônica.

O grupo fosfato termina, de ADI também tem o mesmo nivel de energia ivre de hidrólise

$$ADP + Pt_{*}C \rightarrow AMA' + Pt_{*}(AG)' = 7.30 \text{ KeV}.$$
 (8.33)

Por sua vez, o grupo fosfato de AMP tem ba xa energia la re de hidrolisc

$$AMP + H_2O \longrightarrow adenosma + Fi (\Delta G^{*'} = 3.40 \text{ kcal})$$
 (8.34)

Observe-se que as agações entre os grapos tosfato são de amidado, en quanto que a ligação entre tostato e ribese é agação de ester Essa diferença parece estal has propriedades tanto dos reagentes quanto dos produtos, pois a enorgia, ivre padrão de hidro ise e uma medida da diferença entre as ener gras livres dos reagentes e dos produtos

a de et a de et a

The read part of the state of t

- 7 7 1

the mean of the second of the

de moleculas e a dos compostos que são reservatónio de ligações tostadas ricas de energia.

Na gircolise (ver Cupi 6, o testato do Cil, da moiécula do àcido 1 4-difosfoglicérico é transferido palla a moiécula do ADP formando-se ATP e ácido 3-fostoglicárico em uma relição catal tada pela enzima tesfogliceroquinase Conhecendo-se a constante de equilibrio da reação de transferencia de rosiato, carcula-se a energia intre-padião de hidrol se do ácido difosionidado EmipH 7.0 tem-se

1.3 corestogherato + ADP
$$\longrightarrow$$
 3 fosfoglicerato + ATP (6.35)
 $K = 2070; AG^{*} = -4.50 \text{ kca}$)

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi (\Delta C^* = -7.30 \text{ kGa})$$

Apricando-se o principio da adição para essa sequencia de reações, a energia, vire-paid ào de marálise do grupo 1 fostato de ácido será

$$4G^{(i)} = 7.30 + 4.50 = 1.8 \text{ keal}$$

e d 2 z ... Compostos que são reservationos de «galções fosfatades incas de energia.

São os tostogenios, la discut dos. A natureza noa de energia de toxtoargirima e coslocreatina reside no fato de que os grupos guan dino e fosiaco sofrem uma constrição em sua estabilização ressonante norma. Quando o grupo tosfato e hidrolisado, essa constrição diminul e os produtos de reação formam hibridos de ressonância estaveis

8.3.3 Cumpostos de barca energia livre de hidrónse.

Quando ésteres tosfóricos de álcoois organicos sotrem hidró ise lo a cool livre lem p.H.7.0. possua pouca ou nonhuma estab lidade ressonante. Existem enzimas, como a gioceroquinase e a nexoquinase, que cata isam a transferência de grupos fosfato de ATP para aceptores específicos para formar compostos de baixa energia livre de hidrolise.

ATP+glacioi
$$\xrightarrow{\text{Siteroglimater}}$$
 ADP+glacioi - 3 fosfato 8.36)
 $\Delta G^{or} = 5.10 \text{ kca.}$

ATP+ glicose
$$\frac{hexegiunise}{ADP}$$
+ garcose - 6 - tostato (8.37)
 $\Delta G^{ab} = \pm 4.00$ kcal,

Devido ao fato de os valores de AGO dessas reações serem menos negativos do que para a hidrolise de ATP, ambas as reações tendem para a direira

Transferência enzimática de grupos fosfato

O mecanismo pelo qual ama reação exergônica dirige um processo endergônico pode ser exemplificado pela síntese de um ester e a hidrónise simultanea de ATP em AMP + P.

a R COCH - HO R
$$\leftrightarrow$$
 R COOR + H₂O \rightarrow AMP + PPi \rightarrow COCH - HO R \leftrightarrow AMP + PPi \rightarrow COCH - HO R \rightarrow COCH - HO R \rightarrow COOR + H₂O \rightarrow AMP + PPi \rightarrow COCH - HO R \rightarrow COOR + H₂O \rightarrow AMP + PPi \rightarrow COOR + H₂O \rightarrow COCH - HO R \rightarrow COOR + H₂O \rightarrow COCH - HO R \rightarrow COOR + H₂O \rightarrow C

No caso presente, a reação (b) somente guia à a reação (a) se for compagada a um intermediário comum como no seguinte caso hipotetico.

c) R-COOH+AIP
$$\leftrightarrow$$
R COO-AMP+PPi Δ C° =0)
d) R COO AMP+HO R \leftrightarrow R COOR+AMP Δ G° - 2000 call)

Soma R • COOH • HOR • ATP • RCOOR • AMP • PP1
$$\Delta G^{**}$$
 = 2000 cally P P1 = pirofosfato morgánico

O intermediano R-COO AMP e um achademilato. Fig. 8.7) e é um anidodo entre o acido carbuxi fico e a fosfato da ácido ade il lico.

Actegorismo (RCGO AMP)

Figure 8.7 Antidentité (RCDO-AMF)

Na formação de um acuadenilato, rompe se a ligação entre o pirofostato e a purção adendica do ATP sendo o produto fina um pirofosfato e não imortofostate O valor aCº dessa agação o algo menor do que o valor da primerra ligação do ATP. Devido à pequena variação no valor da energia avre la sintese de um ester orgânico através desse mecanismo não é muito favorecida. Os uest nos metabolicos do pirotosfato parecem não ser mintos Hájentretanlo, pirofostatases que catalisam a hidróuse de pirofosiatos, produzindo ortotostato.com AGo - 7 000 cal Por conseguinte a hidrólise do pirotostato formado durante a sintose de um ester torna essa sintese irreversave.. Casos deste ripo engiobam a sintescide nucleotideos, po inucientideos e ligações. do popifideos e a ativação de ácidos graxos.

8.3 4 I — Quinases.

As quinases são enformas que catalizam a transferencia de tosfato do ATP para um aceptor. São divididas em duas glandes categorias, conforme segue.

a. Quinases que catalisam transferências entre compostos dum ΔC° para a hidrónise de cada um do es e da mesma grandoza. A transferência, portanto pode-se dar em ambos os sentidos

ADP + fosfocrealina
$$\leftrightarrow$$
 ATP + creatina $-\Delta C^{or} + -1500 \text{ ca., } K' = 101$

 Ou noses que cata sam transferência com formação de composios de baixa energia de bidrálise. A reação, com toda probaoi, idade é irreversivei.

ATP + glicose
$$\leftrightarrow$$
 ADP + guicose +6 | rostato | ΔG^{+} = | 4500 ca. e K = 4000)

De acurus, com capman, a importância da formação de ésteres tosfóricos. respaç no fato de o tosfato conferir estabilidade cinética a moléculas termodinamicamente lábeis. Assim, quanto maior a estabilidade em agua de um éster fostorico, maior será a sua utit dade bioquimica. Apesar de o ΔCº de hidrólise de anturido acélico, acetilhosfato e purotostato morganico ser da mesma grandeza para os tres, a estab adado dos mesmos e de pou ros segundos, atgumas lu ras e elguns anos, respecto amento. O ATP e estave, em água - que é de , maiderás el vantagem para a economia da cemba

C sistema ATP. Al Fé a ligação obrigatoria que une como uma ponteos compostos fosfatados ricos de energia la relición os de balka energia. Posfotransferases específicas atuam nessa transferência como é o caso de quinase pirtivica(Eq. 8.38,

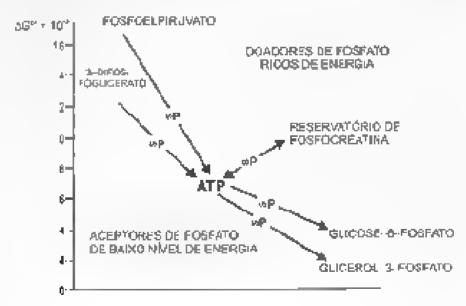
O ATP formado nessa reação passa a ser am doador de grupo fosfato emuma outra reação enzimatica, formando um composio de baixa energia:

$$ATP + g_{i,cose} \xrightarrow{hinogeness} ADP + glicose 6 + tosfato$$
 (8.39)

O resultado é a transverência de um grupo fosfaio de um doador de altonavel pa a um acepior de basxo invei de energia, produzindo a seguinte reacão total

Desse modo, o contoudo do energia da molércia de giscose foi elevado ao mesmo rável dos residuos glicos do glicosemo.

Como indica a Pigi 8 8 na cadeia de reacões que transfere energia na ceada o grapo fostato nunca e transfendo diretamente de um conjunto de alto nive para um aceptor de baixo nível. Não se conhecem enzimas que catalisem essas transferências diretas. Do mesmo modo, não existem nas célusas enzimas que transferem grupos fos ato de um doador rico de energia como, por exemplo, ác do 13 difostoglicérios para sulto aceptor também rico de energia como o piruvato, ou ainda de um deador de baixo rivei, como o gliceroi 3-losiato, para um aceptor também de baixo novel como a gucose. É que codas as reações de transferência de tostato que ocorrem na celula devem ser realizadas através do sistema ATP/ADP



Purcode grupos fostato (+P). Figure 4.6

8.3.5 — Acoptamento de reações

As vezes uma reação endergônica, que não se processa por si mesma deido a um aumento na energia livre, pode sei acoplada com uma reação exer-

g marie assimo o sistema vido se processara. Para que sau exor a de el iave. um intermed ació comum a ambis as reações. Assim-

$$A+B \rightarrow C+D$$
 $\{\Delta G_1^* = *(endergonica)\}$ (8.43)

$$D + - + M + N$$
 if a sterergorical $i = -i8 + 2$

$$A + B + I$$
 $\rightarrow C$ $M + N$ [M. a gendergeoida) (8.43)

ti formado. Eq. 8.41 ie un reagente para a reação seguinte. Ec. 8.42 ie sessempore a serial impacta part, de 7 e 8 c y 8.43, assectavo procese consocrade como um exemplo do principi, de ce Chale di negalado e qualuma reação pode complejar se pela ter oção de a licos pilicados. Discus posicio di e delle e que e renicerio, pero seu aci piar ento con uma segunda reacao.

Nem sempre ama reação espontinha necessariamen e ocorre. Assim la in cação de gricine, que e ama reação com do negativo, mais se efetiva pela simples exposição de glicine a 1º almos encor pei contrario is prociso que ambas as mad dids reagences so choquem com energia subicionte para que hujo in eração entre suas estrutir as cielhonicas, caraltanto lessa resção comtoda reação exergino, a suciente os artera se os reagendes fisierem am oxersos de chena a para romber sua estabilidada. Esse escessa de energia para que amo reagas tenna ni il e centiminado si arytir Jordina. Na higi kiel podo se noter due a moved ca se encontra em um ocorengoto estavel. Años se a e a energia ado imo i energia de a vaçãos a milio ola passa a um estadoenerge ica ma s'elecada la hamir de qual a maçã liciespon anva. Dura licia in aça la ber ami se tanzo a energia intre como a energia de aliviação lesta univida poly abover de serie the calipare que a tração lenha inchos ocinha el ocuperada no final da rescão.

A hidrolose do ure a pode ser realizada tanto pela ação de um acido como cata, sada enzima comente acraves de crease. Na presenca dessa encimala energia de ativação necessa va e significativo mente a minusda.

$$CO(NH_2)_2 + H_2O \xrightarrow{H_0} CO_2 + 2NH_3$$

Fig. 3 Nki a med

 $CO(NH_2)_2 + H_2O \xrightarrow{arouse} CO_2 + 2NH$

Ea = 6.8 kcar / mor

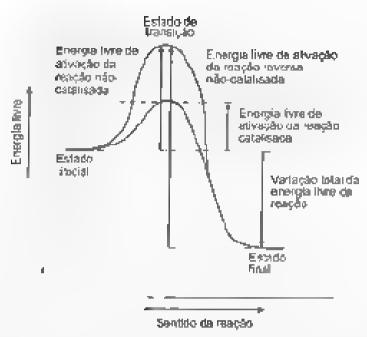


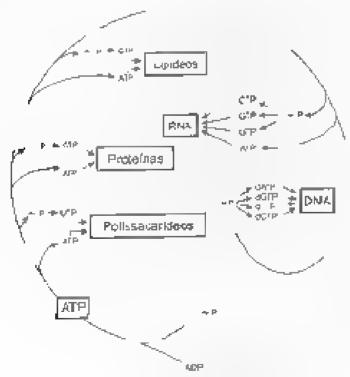
Figura 8.9 — Ação da enzima no decrêscimo do valos da energa de ativação de uma reação bioquímica

A necessidade de energia de ativação pode ser explicada pela distribuição estatistica de Maxweil-Boltzmaian, quando se diz que uma população de moléculas está em um nivel de energia, quer se dizer que a maioria das muié culas está nesse nive le que, portanto, algumas estarão em um nivel energético mais elevado e outras em um mais ballio. As primeiras podem ter energia suficiente para ultrapassar a barreira energetica e religir. Na reação i bertam energia que será utilizada para ativar outras moléculas. É quando então liberarse energia sem que necessário se tome introduzir energia externa ao sistema. Há i untudo outras reações exergênicas que nácise processam, uma vez que as moléculas mais energéticas não têm suficiente energia para reagur na temperatura em que o sistema se encontra. É o que acontece com a girtose qui necessida de energia calórida para reagir. O que se observa é que com um ligent. Aquecimento há um grande alimento na velocidade da reação devido au fato de que um maior número de moléculas passa a ter energia supenor à de ativação.

Quase todas as reações metabolicas se processam através da mediação de um intermediário comum. Quando a energia é transferida em reações consecutivas via A IIP la energia química é transfer da de um doador de alio nive energético para o ADP, e é conservada como ATI lique é um dos produtos da reação. Na reação subsequente la ATP passa a atuar romo substrato, transferindo seu grupo tostato terminal para um aceptor lo qua, aumenta seu conteúdo energetico. Entretanto, muitas reações consecutivas não requerem grupos tostato ou o ATP como intermediarios comuns. Outros grupos funcionais são

ambém enzimaticamente transferidos, como ambio, ace il, átomos de hidrogênio e autros, em reações cojo i ratamento termodinâmico é o mesmo que ate agora estudamos pala a transferencia de grupos tosiato

Ainda no caso espec fico da transferêncio de grupos fosfato, alem du sistema ATP ADP os 5-di e tritostatos de outros riburucious deos e 2-desexi ribonucleosideos também participam nas iransferências de energia na ce i a. Pases compostos tostor lados nau servem só como preciu sures de acidos nucleicos, mas atuam nas lade as de reações que transferera energia quim ca. Essa transierencia, contudo, e feita através de resições o mestadas com o ATP atraves da mediação da enzima difusioqui jase de nucleosideo. encontrada nos mitocondrias e no citopiasma soluvei das cercias. As reações por ela cata isadas são reversíveis, e são reintivamente não especia vas em relação ao substrato. Há transferência de fosfato de qualquer XTP para quaquer XDP Sua K = 1 v em pH 7.3 macpende da natureza dos reagentes, uma vez que a energia vire de hidrónse do grupo losfato terminal de todos os 5 drifosfalos e aprox madamente a mesma. A Pig. 8 -0 mustra como os grupos fosfato ricos de energia entram nas varias vias de bioseintese através dos 5 - trifosfaros



Nucleos de os terte y utos de mo transportado reside grupos. Tosta ha noos de energia Figura 8. O

8.4 - Energética dos sistemas abertos

A anal se dos sistemas rechados e reiativamente simples porque sao considerados somente os estados iniciai e final de um sistema após a cançar o equilibrio. É o caso das reações enzimá cas individuais. Entretanto, quando se tenta aplicar esses conhecimentos às céra as intactas, as dificuldades tornam-se grandes pois as célu as un as são sistemas abertos, como la sile às tro-cam matéria com seu meio e, alem disse inunca e itrain toralmente em equi for o. Ou seja lem nenham moment i uma celula e via existe em regione estadir car e ino qual a intensionade de en rada de matéria é gual à intensidade de soida de matéria.

Os sistemas apertos em não-equilábrio são estudados através da remodeminipa dos processos arreversirees on donale rapidhera que não discuaremos agus. Devernos lembrar, entretanto, que um sistema abosto em regime estacio nario di apaz de produz ri rabalho lustamente porque esta longe do equi ono la sabemos que sistemas no ponto de equilibrio são ocupazes de produzir trabalho. È por estorem longe do equi ibria, na sistemas abertos podem ser controlados e regulados. Alem de mais, como bem lembra, aborneer. "no tormatismo da Termodinámica do não-equilíbrio, a condição de regime. estar opário, que é caracterist da do toda máquina que esta funcionando bempode ser considerada como o estado ordenado de um sistema aberto. Ou sera lo estado no qual há am mor mo de produção de en ropia". Ainda mais iledo o processo de blassintese de macromoréculas e do desenvolvimento cerular é uma poderosa força antientrópica. Como ressa la Katchalsky, "desde que não se pode escapar do destino entripero de rodos os tenômenos, lis organismos y, vos, mantendo um regame estacionario, producem entropia com um monimo. de niensidade".

Literatura recomendada

BRAY FIG & Win TE K Cinética y termodinám ca en bioquilitáca. Za agoza Bo-Acribia 1958.

DAWES, E.A. Quantitative problems in 8 achamistry Edimburgo, 7.5 uniquisme. Let 196

NGRAHAM I. L. & PARDEE A.B. From energy and entropy to metabol so: In: Melabolic Pachways. Greenberg, D.M. ed., and n. p.2-45. Nova York Assurant Press. 1967.

KAPLAN, NO & KENNEDY II P Currents aspects of brothemical energetics Nova-York Academic Press 966. KLOT 4 Energy changes in a scheancal reactions is well-only Press, 1967.
KRP99. I. A. & KORNBERG. I. I. Energy transformations in riving matter Builton Spring Verlag OHG. 1957.

FHW NCFR 4 The m Inchandrian Nova York W A Benjamin 1964

FHNINCER A. Bingographics Nova York W.A. Benjamen Inc. 985.

PHI 9 NOTE: A Principles of Brochemistry Nove York Worth Jubis on 1982.

PluANN 6 Metabotic generation and at lization of phosphate bond energy. Advances in Enzymology, v. 1. 99p., 941

MORRIS G A biologist's physical chemistry condres Edward Arnold (Publs, 1td. 968)

PIMENTEL G.C. & SPRATLEY R.D. Understanding chemical thermodynamics. San Francisco Holden-Day inc. 1969

RACKER E Mechanisms in blochergenes Nova York, Academic Press, 965.

SEC 65 P. Brochemical calculations. Nova York, John Wiley & Sons, no. 468.



PROCESSO BIOTECNOLÓGICO INDUSTRIAL GENÉRICO

Walter Borzami

Uma vez completado o exame de trindamentos indispensaveis ao estudo de problemas de ingenkaria (principa, objetivo do Volume 2) e de aspectos de tecnologia (reunidos nos volumes 3 e 4) merentes aos processos bionechológicos industriais pareceimos anonsethávos apresentar aos a unos que estão se iniciando no campo da Biotecnológico industrial iuma representação esquemática de um processo biotecnológico industria, genérico, procurando destacar as principais etapas que o constituem

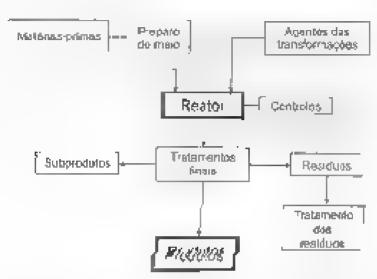
O aluno podera assim, quando divestudo de limitóp de específico, si tuar a posição desse tópico no contexto geral do processo que esteja sendo examinado.

Em qualquer processo bioternológico industrial lo elemento centra lé o piator pois nele se desenvolvem devidamente controladas las transformações que nos interessam

Isso não quer dizer que cireator constitua a etapo mais importante do processo. Para que ciresultado que se tem em vista seja ateoniçado, dois outros conjuntos de ope ações devem ser também ou dadosamente considerados, a saber

l) Os Iratamentos iniciais ("Opstream processes", que antecedent a operação no reator e cuja fina idade é colocar — sistema nas condições previa mente escolhidas, para que as transformações, no reator ise wesenvolvam a contento.

2) Os tratamentos finais ("Downstream processes"), que englobam a separação e a purificação dos produtos e subprodutos obtidos, bem como o tratamento dos residuos formados. A Fig. 4.1 represes a esquemática e resummamente, o que foi dito até este momento



Nigara 9.1 Regresamação exponedada de im processo acidemológico industria generale

Quanto os agentes das canstormações quo ocorrem no teator são ob uma enzima (publicada ou não, ou uma mistera de eozimas (também mais ou micros purificados ou ainda ce clas nativadas ou mortas ique deste caso. funcionam como simples suportes las enzimas), o processo recebe a denominação gonérica de processo enzimático.

Por outro lado, se os agentes das transformações são microrgan amos vivos, de modo que as reações que se desenvo, rem no reator são consequências da atividade vita das réla as microbianas, o processo é denominado processo fermentar no Nesse coso, o reator o muito frequentemente também chamado fermentador ou dorna.

Cumpre não esquecer que a at ildade vatal dos microrganismos responsaveis por um processo formental vole sempre o resultad de considerávei número de reações enzimás das Alriga portanio, quer nos processos chama dos enzimáscos, quer nos demonanados formentativos enzimas são em última análise os catalosadores dos transformações que ocorrim no reator.

Dois casos importantes que aiguns autores englibam também na care gona de processos fermentarios, são aqueles em que os agentes das transcormações são ou cértuas de recidos (amimais ou vegetais), ou virus.

Em que pese o tato de a Fig. 9 poder representar em suas la has ge ais, tanto processos enz maticos quanto processos fer nentativos, parece nos
conveniente, com relação a esces últimos apresentar nais pormenorizada
mente as etapas que os constituem. É o que nos aiostra a Fig. 9.2. Campre
contado informar que non rocos os processos iermentativos aidastriais com-

preendem todas as etapas indicadas na Fig. 9.2. Dependendo do processo considerado, uma ou mais dessas etapas podem não existir, como será visto no Volume 3 desta série Biotecnologia Industrial.

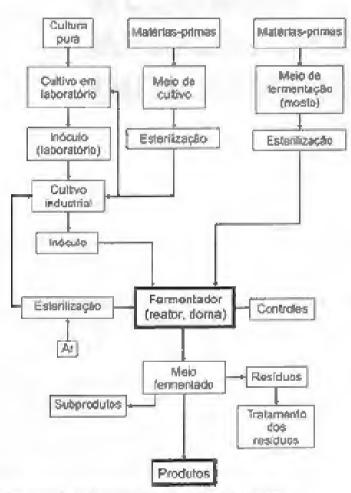
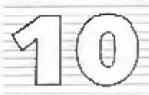


Figura 9.2 — Principes etapas de um processo fermentativo industrial genérico.



ALGUMAS APLICAÇÕES INDUSTRIAIS

Walter Borzani

Os dois últimos volumes desta Coleção tratam de examinar, com os pormenores cabíveis em cada caso, vários processos biotecnológicos de interesse industrial.

Parece-nos recomendável, contudo, a apresentação de uma enumeração sucinta de aplicações da Biotecnologia no setor industrial, para que o aluno possa, desde Já, fazer uma idéia geral da importância da Biotecnologia Industrial em nossos dias.

Convém destacar, porém, que a relação de exemplos considerada neste capitulo não só não é completa, como também não pretende estabelecer qualquer ordem de importância relativa dos processos que serão apontados. Mesmo porque a dinâmica inerente aos complexos sistemas sócio-econômicos, tanto em nível regional como em nível mundial, pode fazer com que um dado processo, hoje pouco relevante em uma determinada região, passe a ser, às vezes a prazo relativamente curto, de fundamental importância nesta mesma região, e vice-versa.

Processos fermentativos são utilizados industrialmente na produção de bebidas elcoólicas (cervejas, vinhos, sidras, aguardentes), vinagres, etanol, ácidos orgânicos (cítrico, lático, fumárico, giberélico), solventes (butanol, acetona, isopropanol), vitaminas (riboflavina, ácido ascórbico, cobalaminas, ergosterol), antibióticos (penicilinas, estreptomicina, tetraciclinas, griseofulvin), polissacarídeos (dextrânios), aminoácidos (lisina, ácido glutâmico), esteróides modificados (por hidroxilação, hidrogenação, desidrogenação, hidrólise, esterificação, isomerização, aminação, ruptura de cadeia lateral), leites fermentados (iogurte, leites acidófilos), manteigas, queijos, pides, chucrute, azeitonas, pão, cacau, lipideos, ensilagem, várias proteínas. Metais diversos (cobre, zinco, prata, ouro, urânio) podem ser obtidos por fermentação, a partir de miné-

rios de baixo teor. Os processos de tratamento biológico de resíduos (águas residuárias, lixo) são, também, processos fermentativos. Não podem deixar de ser citados, para encerrar esta relação, os processos fermentativos que têm por objetivo a produção industrial de microrganismos que, por sua vez, podem ser utilizados:

- Como agentes de outros processos fermentativos (leveduras para panificação, leveduras para produção de etanol, bactérias para tratamento biológico de efluentes);
- 2) Na alimentação do homem e de animais, quer na forma de concentrados protéico-vitamínicos (algas, leveduras do gênero Candida), quer no enriquecimento protéico, principalmente pela ação de bolores, de vários materiais (farinhas, farelos, resíduos da industrialização de frutas);
- Como fixadores de nitrogênio do ar na agricultura (bactérias do gênero Rhizobium);
 - 4) No controle biológico de pragas (bactérias do gênero Bacillus):
- 5) No produção de vacinas (bactérias dos gêneros Corynebacterium, Bordetella, Neisseria, Mycobacterium).

Quanto à utilização de enzimas, principalmente em meio aquoso, como agentes de transformações em escala industrial, cumpre ressaltar que sua importância vem crescendo acentuadamente. Citemos, sempre de maneira resumida, algumas indústrias em que são utilizados preparados enzimáticos para fins específicos: cervejaria (amilases, amiloglicosidase, papaína), panificação (amilases, pepsina, lipases), produção de edulcorantes (alfaamilase, invertase, glicose-isomerase), indústria têxtil (alfaamilase, celulases), produção de vinhos e sucos (pectinases), indústria do leite (lactase, catalase, lipases), indústria farmacêutica (celulases, bromelina, penicilina-acilase, pancreatina), indústria de carnes (papaína), fabricação de queijos (reninas), produção de detergentes (proteases), indústria do pescado (proteases), curtume (pancreatina).

Literatura recomendada

- 1) ILLANES, A. Biotecnologia de Enzimas. Ediciones Universitárias de Valparaiso de la Universidad Católica do Valparaiso, Valparaiso (1994).
- 2) PRESCOTT, S.C. & DUNN, C.G. Industrial Microbiology. McGraw-Hill, Nova York (1959).
- 3) REED, G. Prescott & Dunn's Industrial Microbiology. The AVI Publishing Company, Westport (1982).
- 4) REHM, H.J. & REED, G. Biotechnology (Coleção de oito volumes publicados a partir de 1981). Verlag Chemie, Weinheim.

BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL

Esta edição, revista e ampliada, da série Biotecnologia Industrial, é uma contribuição de grande importância teórica e prática para os múltiplos temas abrangidos pelo assunto. É uma obra toda ela elaborada por autores nacionais, coerdinados por quatro professores de vasta experiência, representando a condição atual dos estudos e aplicações subordinados ao campo que dá o título à série.

O estudo da Biotecnologia Industrial não deve ser entendido como apenas uma descrição, mais ou menos pormenorizada, de processos biotecnológicos de interesse prático. Em que pesem a necessidade e a importância dessa descrição, não é ela suficiente para formar a almejada estrutura mental do futuro profissional.

Para que o aluno possa, de um lado, compreender o porquê de várias recomendações indispensáveis ao bom andamento das transformações desejadas e, poi outro, adquirir uma formação que lhe possibilite enfrentar, racionalmente, questões que poderão se apresentar em sua futura atividade profissional, deve ele possuir um adequado conhecimento de FUNDAMENTOS indispensáveis. Tal é o objetivo primordial deste primeiro volume.

Nove profissionais, pertencentes aos quadros docentes da Universidade de São Paulo e do Centro Universitário do Instituto Maua de Tecnologia, reuniram, neste volume, tópicos fundamentais de microbiologia, genética, engenharia genética, enzimologia, caminhos metabólicos, cinética e termodinâmica de reações enzimáticas, além de, sucintamente, apresentar as etapas que constituem um processo biotecnologico industrial genérico e apontar alguns exemplos com o único objetivo de dar, ao aluno, uma ideia do campo de atuação da biotecnologia industrial.



EDITORA EDGARD BLÜCHER LTDA

